Lane Medical Libra

Über das wirksame Prinzip der Lebertherapie bei perniciöser Anämie

Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

der

Medizinischen Fakultät

der

Hessischen Ludwigs-Universität zu Gießen

vorgelegt von

Yen Tschen
aus Schanghai

Gießen 1932

von Münchowsche Universitäts-Druckerei Otto Kindt G. m. b. H.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät zu Gießen.
Referent: Privatdozent Dr. Büttner.

Meiner lieben Mutter

in Treue und Dankbarkeit gewidmet.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154005_0068

Die Einführung der Lebertherapie bedeutet ohne Zweifel einen der größten Fortschritte in der Therapie in den letzten zehn Jahren. Mit dieser Einführung sind die Namen Minot und Murphy eng verknüpft. Daraus darf man nun allerdings nicht den Schluß ziehen, daß Minot und Murphy die eigentlichen Entdecker dieser Therapie sind, denn in der chinesischen Medizin ist zum Beispiel das Essen von Leber bei Blutarmut schon seit Jahrhunderten bekannt. Schon bald nach der Einführung der peroralen Lebertherapie wurden in der Literatur leberresistente Fälle von perniciöser Anämie angegeben, und sehr bald zeigte es sich, daß unüberwindliche Abneigung vieler Patienten gegen Leber diese Therapie unmöglich machte. Man suchte deshalb nach Auswegen und es ist das Verdienst Gänßlens (16), in der parenteralen Lebertherapie einen Ausweg aus diesen Schwierigkeiten gefunden zu haben. Der große Fortschritt liegt einmal darin, daß bei parenteraler Lebertherapie wesentlich geringere Mengen nötig sind. Ein Extrakt aus 10 g Leber eingespritzt hat dieselbe Wirkung wie etwa 500 g Leber per os. Hieraus ist ohne weiteres der Schluß zu ziehen, daß bei der Magen-Darmpassage ein großer Teil der Leberwirkung verloren geht. Unwillkürlich denkt man bei dieser Tatsache an das Insulin. Ein weiterer Fortschritt der parenteralen Therapie ist darin zu erblicken, daß die Zahl leberresistenter Fälle auf ein Minimum zusammengeschrumpft ist.

Mit der Einführung der Lebertherapie setzte sofort die Forschung nach dem wirksamen Prinzip ein und mehr als ein Autor glaubte bereits die Substanz gefunden zu haben. Da nach den Arbeiten von Büttner (19) und seinen Mitarbeitern Zweifel an diesen Angaben bestehen, haben wir uns mit diesem Problem befaßt, und versucht das wirksame Prinzip zu finden.

Pathogenese der Anämie bzw. pern. Anämie.

Bevor man in das Problem der Lebertherapie eindringt, ist es notwendig, sich über die Pathogenese der Anämie etwas zu orientieren. Soweit die jetzige Wissenschaft reicht, können wir uns wohl folgendes Bild von der Physiologie bzw. Pathophysiologie des Erythrocytenapparates machen (1). Es besteht im Blut eine konstante Zahl der Erythrocyten und ein konstanter Färbeindex, d. h. konstanter Gehalt an Hämoglobin. Diese Konstante ist keine tote, sondern eine dynamische, d. h. es herrscht ein dauerndes Untergehen und dauernder Neuaufbau, ein Gleichgewichtsbestreben in dem Bildungs- und Mauserungsprozeß. Solche Analogien finden wir im Organismus vielfach, wie z. B. das Pufferungssystem des Blutes zur Erhaltung der konstanten Reaktion, Blutzuckerspiegel usw. Die Bildungsstätte ist postembryonal das Kno-

chenmark, während im Embryonalzustand die Leber und Milz auch eine Rolle spielen. Über die Mauserungsstätte sind sich die Forscher noch nicht ganz einig, doch ist die große Rolle der Milz eindeutig erwiesen. Ob das Reticuloendothelialsystem allein diese Funktion hat ist noch strittig. Das Gleichgewicht wird durch nervöse (2) und hormonale Einflüsse reguliert. Einzelheiten sind heute noch im Dunkeln. Nach der Milzexstirpation tritt regelmäßig bei Menschen und Tieren eine Erythrämie und eine erhöhte Blutkörperresistenz ein. Deshalb hat man angenommen, daß die Milz ein Hormon bildet, welches die Blutbildung hemmt. Ferner vermutet man, daß die Leber ein Hormon bildet, das die Blutbildung anregt. (Lichtwitz, Schilling u. Büttner).

(Setzt man diesen Mechanismus der Blutbildung und der Zerstörung als richtig voraus, dann bestehen für das Zustandekommen der Anämie folgende Möglichkeiten:)

1. die verminderte Bildung. Es kann die Ursache
   a) in der Bildungsstätte selbst liegen. (Toxische Schädigungen der Blutbildungsstellen usw.). Oder
   b) im Regulationsapparat, sei es nervös oder hormonal, etwa daß die Anregung zur Blutbildung herabgesetzt oder die Hemmung derselben erhöht ist;
   c) schließlich Mangel des Organismus an Baumaterial für den Aufbau der Blutzellen.
2. die vermehrte Zerstörung,
   a) durch plötzlichen Verlust,
   b) durch dauernden vermehrten Untergang
      1. in der Peripherie durch Toxinwirkung,
      2. durch Überfunktion der Mauserungsstätte der Milz bzw. Reticuloendothelialsystems,
      3. durch Störung in dem Regulationsmechanismus, da die Mauserung auch der Regulation unterworfen ist.

Theoretisch bietet sich also schon ein sehr buntes Bild. In der Praxis ist das Problem noch komplizierter, da derselbe Erfolg über verschiedene Angriffspunkte erzielt werden kann, wie z. B. durch verminderte Bildung allein oder vermehrte Zerstörung allein, oder beide kombiniert. Die meisten Blutgifte haben nicht nur hämolytische Wirkung in der Peripherie, sondern wirken auch schädigend auf das Knochenmark. Das Problem wird noch komplizierter und das Bild noch unklarer durch die Trennung von Erythro- und Hämatopoese bzw. Erythro- und Hämolyse (Chromolyse). K. W. Schulze (3) hat darauf aufmerksam gemacht, daß bei der Erythropoese die Hämoglobinsynthese und die Bildung von Erythrocyten voneinander zu trennen sind. Diese Trennung der zwei verschiedenen Funktionen des Knochenmarks ist durchaus berechtigt. Das Vorkommen der verschiedenen Färbeindices bei der primären und sekundären Anämie, das Nichtparallelgehen der beiden Vorgänge sowohl bei der Regeneration als auch bei der Lebertherapie läßt zwingend diese Trennung annehmen.

Die klassische Einteilung der Anämie in primär und sekundär hat manches für sich, doch erschöpft sie das Problem nicht vollständig

Die Einteilung nach Nägeli (4) in konstitionelle, konditionelle und rein exogen bedingte Anämie ist nicht absolut rationell, da eine rein exogene Einwirkung erst zur Krankheit führen wird unter der Voraussetzung der inn. konstitionellen Disposition und umgekehrt viele konstitionellen Anomalien erst durch exogene Faktoren zur Geltung kommen. Eine wirklich rationelle und zugleich für die Praxis auch brauchbare Einteilung der Anämie existiert zur Zeit noch nicht. Das hat seinen Grund darin, daß wir klare Erkenntnisse von den Ursachen der verschiedenen Anämien heute noch nicht besitzen.

Für die Beurteilung der verschiedenen Formen der Anämie in der Bildung und Zerstörung ist folgende Tabelle zusammengestellt worden (6):

Klinischer Befund.

	Hämolytischer Ikterus	Perniciöse Anämie	Sekundäre Anämie	Posthämorrhagische Anämie
Hb %	50—75 %			
Eryth. Mill	etwas niedrig	2—3 Mill.		
Färbeindex	normal oder etwas erhöht	größer als 1,0	unter 1,0	nicht über 1,0
Rotes Blutbild	Sphärocyten Polycbromasie	megaloblastisch Anisocytose Poikilocytose Polychromasie	Anisocytose Poikilocytose Polychromasie	Polychromasie
Weißes Blutbild		Thrombopenie Leukopenie	Leukocytose	Leukocytose
Reticulocyten	vermehrt	nicht vermehrt, nur Steigerung nach Lebertherapie	vermehrt	vermehrt
Resistenz	vermindert	nicht vermindert Lebensdauer aber verkürzt		
Bilirubin i. Blut	+++	+++	+	
im Urin	— — —	— — —		
Urobilin oder Urobilinogen	+++	+++	+	

Pathol. Anat. Befund.

	Hämolytischer Ikterus	Perniciöse Anämie	Sekundäre Anämie	Posthämorrhagische Anämie
Knochenmark	nicht hyperplast.	rotes Knochenmark, megaloblast. Entartung, extramedul. Blutbildung	rotes K. M.	rotes K. M.
Haemosiderosis	nicht eindeutig	Leber und Milz starke Eisenablagerung		

Man sieht aus der Tabelle, daß die posthämorrhagische Anämie eine Gruppe für sich bildet und in deutlichem Gegensatz zu den drei anderen Anämien steht.

Die perniciöse Anämie hat folgenden Symptomen-Trias: Blutveränderung, Gastro-intestinale und funikuläre Erscheinung. In der Blutveränderung hat die perniciöse Anämie durchaus mit dem hämolytischen Ikterus Gemeinsames, wie z. B. vermehrte Regenerationserscheinung, ikterische Verfärbung der Haut, Milzvergrößerung, Gallenfarbstoffderivatvermehrung. Eppinger (5) hat in gewissem Sinn recht, wenn er die perniciöse Anämie zu den hepatolienalen Erkrankungen hinzurechnet. Das vermehrte Bilirubin im Serum (daher dunkelgoldgelbe Verfärbung des Serums und indirekte Heyman v. Bergh-Reaktion), Urobilinvermehrung im Urin, Vergrößerung der Milz, und starke Eisenablagerung in allen Organen deuten wohl auf eine vermehrte Zerstörung der Blutkörperchen hin. Ob diese vermehrte Zerstörung durch die Überfunktion der Milz (Supersplenismus im Sinne Eppingers), wie beim häm. Ikt. zu erklären ist, läßt sich hier nicht entscheiden. Die Vergrößerung der Milz kann aktiv sein wie beim häm. Ikt., oder die Milz kann sich auch passiv vergrößern durch vermehrte Ablagerung der abgebauten Produkte. Darum sieht man auch den Unterschied in der immer starken Eisenablagerung in der Milz und Leber bei pern. Anämie, während beim häm. Ikt. dieser Vorgang nicht regelmäßig zu beobachten ist. Daß durch Milzexstirpation die pern. Anämie nicht geheilt werden kann, deutet darauf hin, daß außer der Störung der Milzfunktion noch andere Faktoren für die Pathogenese der pern. Anämie zu suchen sind. Es ist bekannt, daß es in der Natur viele Blutgifte gibt, die hämolytisch wirken, wie z. B. Saponine, Schlangengifte, giftige Pilze, vor allem die Lipoide mit hoher Oberflächenaktivität. Man suchte nun die Pathogenese der pern. Anämie durch diese hämolytischen Gifte zu erklären. Auf dieser Vorstellung beruht auch die alte Anschauung von dem Nutzen der fettarmen Diät bei den pern. Anämie-Kranken. Sonst ruft Hämolyse Hämoglobinämie bzw. Hämoglobinurie hervor, doch ist dieses bei pern. Anämie niemals beobachtet worden. Die Isolierung der wirksamen Substanzen aus den Fäces u. a. (s. o.) hat ergeben, daß diejenigen Stoffe, die in Vitro hämolytisch wirken, im Organismus keine Anämie erzeugen. Seyderhelm (7) hat beim Studium der pern. Anämie bei Pferden einen Stoff genannt Östrin, aus den im Magen des Pferdes schmarotzenden Gastrophiluslarven der Pferdebißfliege (Oestrus egui) durch wässrige Extrakte gewonnen, der nach Injektion oder nach Resorption von Magen und Darmkanal bei Pferden und Eseln auch bei Kaninchen ein der pern. Anämie ähnliches Bild hervorruft. Stoffe, die beim Menschen gleiche Wirkung ausüben, konnte er auch aus dem Bothriocephalus latus darstellen. Aber dieses Östrin wirkt nicht unmittelbar hämolytisch. Es ist also sehr unwahrscheinlich, daß hämolytische Gifte in der Peripherie bei der pern. Anämie kreisen. Auch Blutgifte wie Pyridin, Phenylhydrazin, Pyrogallol u. a. bewirken in vitro niemals Hämolyse, sie haben vielleicht auch Angriffspunkte in der Milz, bzw. im Knochenmark.

Kürzlich meinte Seyderhelm (8), daß „der gesteigerte Blutzerfall bei der pern. Anämie nicht direkte Folge einer toxischen Wir-

kung sei, sondern die Toxine führten im tierischen Organismus zur Entwicklung einer Anämie, wobei die megaloblastische Entartung des Knochenmarks der sichtbare Ausdruck der myelotoxischen Wirkung ist." Morawitz (9) behauptet auch, gestützt auf seine Untersuchungen mittels Bluttransfusion, daß die Blutkörperchen der pern. Anämie nicht im gesteigerten Tempo durch direkte Toxinwirkung zerfallen, sondern deshalb, weil der Aufbau im Knochenmark durch ein Gift so geschädigt ist, daß ihre Lebensdauer stark begrenzt ist. Die Ursache scheint nicht in einer gesteigerten Aktivität des Reticuloendothelialapparates, sondern vielmehr in der Insuffizienz des Aufbaus im Erythrocytenapparat zu liegen. Auch Nägeli (4) sieht die primäre Störung im Knochenmark. Andere Autoren teilen diese Ansicht allerdings nicht. Man konnte nämlich zeigen, daß die Megaloblasten auch bei sek. chron. Anämie und bei schweren Infektionen vorkommen. Schilling (10) meint deshalb, daß „das megalocytäre Blutbild ein besonders ernst zu wertendes Blutbild verschiedener Anämien vorstellt, aber an sich nicht spezifisch ist." Wir dürfen hieraus nicht schließen, daß die Störung allein im Knochenmark liegen muß und man darf die extramedullären Faktoren nicht zu sehr unterschätzen.

Das konstante Auftreten der Frühsymptome der Achylie und gastro-intestinale Erscheinungen haben seit langem die Aufmerksamkeit auf Magen und Darm als Entstehungsort eines giftigen Agens gelenkt (Hunter und Grawitz). Man nahm an, daß die Atrophie des gastro-intestinalen Kanals das Primäre sei und daß dadurch Achylie und abnorme Resorptionsverhältnisse entständen und die Bedingung für die Intoxikation gegeben wäre. Grawitz hielt das Fehlen der Salzsäure als Desinficienz für einen wichtigen Faktor in der Entstehung der Anämie. Für diese Erklärung spricht die Tatsache, daß man aus den Fäces und aus den Darmbakterien von Anämikern Stoffe gewinnen konnte, von denen eine Fraktion, in vitro hämolytisch, in vivo keine Anämie erzeugt, während eine andere Fraktion im Reagenzglas Erythrocyten nicht auflöst, Kaninchen aber bei intravenöser Injektion anämisch macht. Man sah ferner auch ein der pern. Anämie ähnliches Blutbild bei Darmstenose und Darmstrikturen (Falber, Meulengracht). Aber gegen diese Annahme spricht die Tatsache, daß alle Versuche Darmbakterien zu beseitigen und Fäulnisprodukte herabzusetzen, wie z. B. Magen- und Darmspülung, Darmdesinfektion (Grawitz), Colostomie (Seyderhelm), keinen Erfolg bei pern. Anämie hatten. Genauere chemische Untersuchungen von Blooch und Strauß auf Indikan, Ätherschwefelsäure u. a. haben ergeben, daß eine vermehrte Darmfäulnis bei pern. Anämie nicht vorliegt (cit. n. Nägeli). Neuere bakteriologische Untersuchungen des Magens und des Darmes bei pern. Anämie haben wohl den Nachweis erbracht, daß eine starke Besiedlung des Duodenums und Magens mit Koliflora vorhanden ist. Aber das ist nicht spezifisch für pern. Anämie, sondern man findet derartiges auch bei anderen Achylien und Gallenaffektionen. Man steht vielmehr auf dem Standpunkt (Nägeli und Morawitz), daß die Bakterienansiedlung sekundärer Natur ist. Hierbei ist noch zu bemerken, daß nach Angabe von Voit 12% der pern. Anämie-Fälle normale Salzsäurewerte zeigten (cit. n. Schilling (10)).

Seit langem weiß man, daß eine Anämie, die durch Bothriocephalus latus hervorgerufen ist, der Biermerschen Anämie vollkommen gleich sein kann. Diese Anämie heilt meistens dauernd nach Beseitigung des Wurmes. Auch andere Helminthen sind als Ursache angegeben worden. Als Schwangerschaftstoxikose ist auch ein der pern. Anämie ähnliches Krankheitsbild beschrieben worden. Die Heilung verhält sich wie bei Bothriocephalusanämie, meistens Dauerheilung nach der Geburt. Als andere Ursachen sind Lues, Tbc., Ca, Sprue angegeben worden. Schilling (10) berichtet, daß bei Sprue alle Übergänge von sekundärer Anämie bis zur zweifellos ganz typischen Biermerschen Anämie vorkommen, ähnlich wie bei „Bothriocephaluskranken". Außer den genannten ätiologischen Momenten können noch zahlreiche andere Ursachen in Frage kommen.

Diesen pern. Anämie-Formen hat man die Biermersche Anämie im engeren Sinne als sogen. „essentielle" oder „kryptogenetische" (11) Anämie gegenübergestellt.

Worin liegt denn nun die Ursache? Im Zerstörungsapparat sicher nicht oder vielmehr nicht allein, sonst würde sich ja das Krankheitsbild mit dem des hämolytischen Ikterus decken. Vielleicht liegt sie in der Bildungsstätte, im Knochenmark, wie Nägeli meint; daß bei „pern. Anämie eine ganz charakteristische, einheitliche und scharf ausgeprägte Funktionsstörung des Knochenmarks vorliegt (4)." Sie kann aber auch im Regulationsapparat liegen, so z. B. hat einmal Schilling (12) die Vermutung ausgesprochen: „Es ist nicht unwahrscheinlich, daß gerade die blutaufbauenden und blutabbauenden Organe selbst auch Sitz und Ursprungsort der Hormone sind (Knochenmark, Leber, Milz) und daß Ausfall oder Übermaß physiologischer Hemmung und Reize auch das eigentliche Wesen der pathologischen Blutreaktionen und Blutkrankheiten bilden."

Der plötzliche Blutverlust und auch der vermehrte Untergang der Blutkörperchen wirkt als Reiz auf das Knochenmark zur starken Neubildung. So sehen wir starke Regenerationserscheinungen des Knochenmarks bei posthämorrhagischer Anämie und hämol. Ikt., ausgedrückt durch das Auftreten der kernhaltigen Erythrocyten, polychrome Scheiben und Zellen mit Substantia-reticulo-filamentosa. Ein Blutbild von embryonalem Typus mit Auftreten von extramedullären Bildungsstätten, wie in Leber und Milz konnten auch bei stärksten Reizungen experimentell nie erzeugt werden. Man sieht ferner, daß hohe Reticulocytenwerte als Zeichen der starken Regeneration gerade bei der perniciösen Anämie fehlen (13), und nur unter Anwendung der Lebertherapie und bei Spontanremissionen gefunden werden. Man muß daher wohl eine Dysfunktion der Bildungsstätte voraussetzen. Um eine eigentliche Unterfunktion handelt es sich wohl nicht, denn die Bildungsstätte, das Knochenmark befindet sich deutlich in stärkster Regeneration, der gesteigerte Blutumsatz, Umwandlung des gelben in das rote Mark u. a. deuten darauf hin. Trotzdem bleibt der Patient in Hb- und Erythrocytenwert niedrig. Ohne eine gesteigerte Zerstörung ist dieses Phänomen kaum denkbar; daher ist der hämolytische Faktor in der Pathogenese nicht außer acht zu lassen.

Klinische Erfahrungen und Wirkungsweise der Lebertherapie.

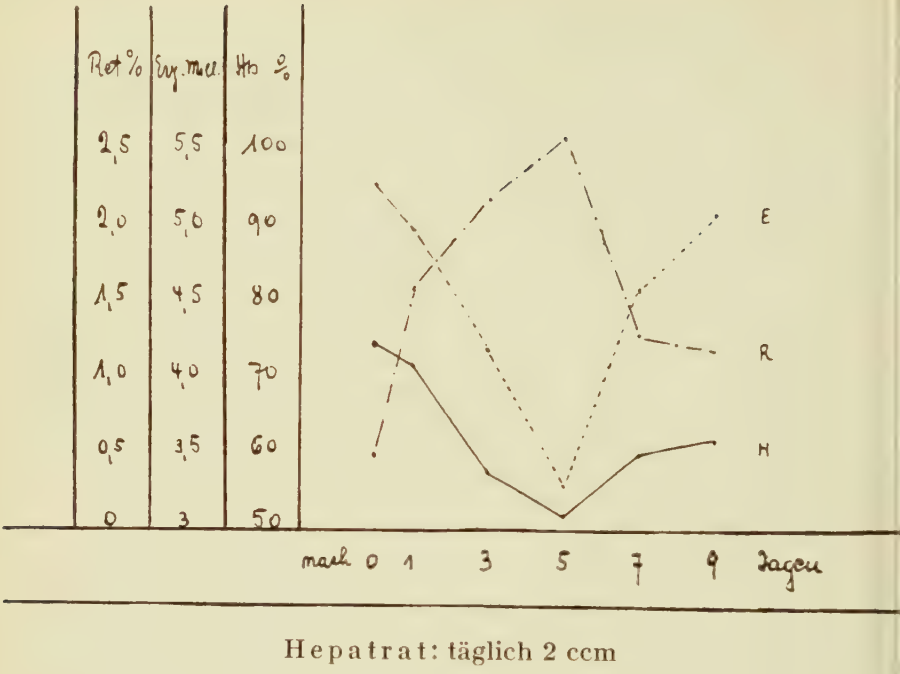
Bis zu diesen Ergebnissen ist man mit den bisherigen wissenschaftlichen Methoden in der Erforschung der pern. Anämie gekommen. Durch die großartige Entdeckung der Lebertherapie ist die Geschichte der pern. Anämie-Forschung an einen Wendepunkt gekommen. Whipple (14) und seine Mitarbeiter haben den Nachweis erbracht, daß die Verfütterung von Leber und Niere bei Aderlaßanämie zu schnellster Blutregeneration führt. Auf Grund dieser Tatsachen haben dann Minot und Murphy (15) eine spezielle Diät, die reichlich Leber enthielt, in die Behandlung der pern. Anämie eingeführt und kamen zu dem überraschenden Ergebnis, daß die sonst immer zum Tode führende pern. Anämie immer sehr schnell gebessert wurde. Sie berichteten: Am Ende der ersten Woche beginnen die Reticulocyten zu steigen, am Ende der zweiten Woche erreichen die Erythrocyten den normalen Prozentsatz. Der Bilirubinspiegel im Serum fällt, die gelbe Verfärbung der Haut verschwindet. Die Patienten fühlen sich bedeutend besser und bekommen auch Appetit. Das Blutbild wird auch allmählich normal, Megaloblasten gehen zurück, scheinen wieder zu normalen Zellen heranzureifen.

So verblüffend auch die Leberwirkung auf die Blutbeschaffenheit ist, so scheinen doch die gastro-intestinalen und spinalen Erscheinungen wenig beeinflußbar. Minot und Murphy haben zwar berichtet, daß spinale Lähmung durch Leber besser zu werden scheint, und kürzlich haben Gänßlen (16) und Schilling (17) dies auch bestätigen können, während Nägeli (4) dies ablehnte. Die Glossitis, die Achylia und die abnorme Bakterienflora in Magen und Darm werden von der Lebertherapie nicht beeinflußt.

Bei anderen Anämien sind die Urteile schwankend. Gänßlen (18) berichtet, daß die Lebertherapie bei akut entstehenden posthämorrhagischen Anämie nicht anspricht, bei der sich schleichend sich entwickelnden chronischen Anämie aber mindestens Teilerfolge zu erzielen sind. Auch einzelne innersekretorisch bedingte Anämien, vor allem Schwangerschaftsanämie und sekundäre Anämie nach Genitalblutungen auf ovarieller oder hormonaler Grundlage versprechen eine dankbare Behandlung.

Diese klinischen Erfahrungen kommen auch beim Tierversuch zum Ausdruck. Wir haben täglich normalen Tieren Leberextrakte intraglutär injiziert, ohne sie vorher anämisch zu machen. Alle 2—3 Tage verfolgten wir genau die Blutwerte: Hb-Gehalt, Erythrocytenzahl und Reticulocytenprozentsatz. Wir entnehmen eine Kurve aus unseren zahlreichen Versuchen als ein Beispiel und können deutlich zeigen, wie überraschend die klinischen Befunde mit dem Tierversuch in Übereinstimmung kommen. Wir sehen (s. Kurve 1), daß nach der Gabe eine deutliche Steigerung der Reticulocyten und zugleich eine Senkung des Hb-Gehaltes und der Erythrocyten, genau wie Gänßlen (19) aus klinischen Erfahrungen berichtet hat, daß in den ersten Tagen der Behandlung die Blutarmut häufig noch weiter zunimmt. Nach 6—8 Tagen fallen die Reticulocyten ab zugleich mit einer Steigerung von Hb. und Erythrocyten, was wiederum vollkommen mit

Kurve 1.



Hepatrat: täglich 2 ccm

—— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

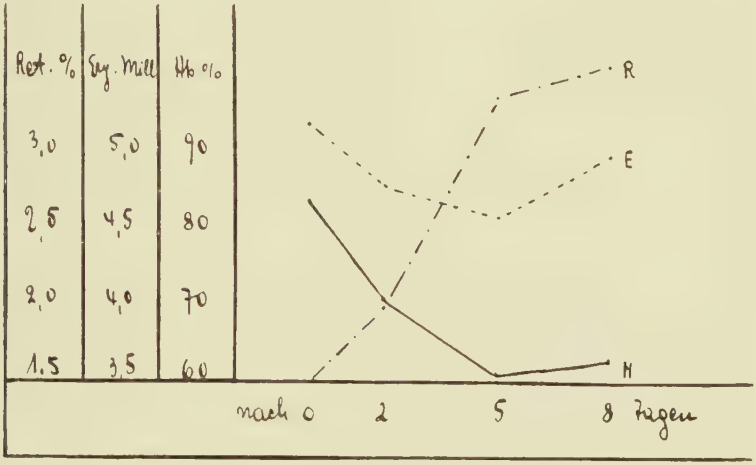
den klinischen Erfahrungen von Minot u. Murphy (15) übereinstimmt: „Später, wenn die roten Blutzellen zu steigen beginnen, haben wir oft eine abnorm kleine Zahl von Reticulocyten bemerkt.“ Diese Senkung des Hb. und der Erythrocyten am Anfang der Lebergabe kann man nicht erklären. Wir haben an vermehrte Zerstörung der Blutkörperchen gedacht und haben in der Höhe der Senkung etwa nach 7—8 Tagen den Urin auf Urobilinogen und Urobilin untersucht ohne eine Vermehrung zu finden. Ob Gallenfarbstoffderivate im Serum vermehrt sind, muß sich durch weitere Untersuchungen zeigen.

Wir glauben durch diese Versuche an Tieren eine bequeme und praktisch brauchbare Methode zur Prüfung der Wirksamkeit der Leberextrakte in der Hand zu haben, während bis jetzt diese Prüfung stets auf P.A.-Kranke beschränkt werden mußte. Die amerikanischen Autoren glauben die Wirksamkeit der Leberextrakte durch Beobachtung des Reticulocytenanstiegs prüfen zu können, während Gänßlen (18) darauf aufmerksam macht, daß „dem Reticulocytenanstieg nicht immer ein Anstieg der Blutwerte darauf folgt.“ Wir halten deshalb die kombinierte Untersuchung für wertvoller. Unter Benutzung dieses Testobjekts haben wir die Wirksamkeit der wichtigsten Ex-

trakte untersucht, die in Deutschland im Handel sind, wobei sich die Untersuchung auf das rote und weiße Blutbild erstreckte.

Wir geben eine Durchschnittskurve von 4 Kaninchen mit einfachem Hepatopson bekannt, dessen Wirksamkeit klinisch vielfach erwiesen ist (Büttner (19) u. Schlierbach (20)). (Siehe Kurve 2).

Kurve 2.



Hepatopson: tägl. 2 ccm (4 Kaninchen)

——— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

Deutlicher Reticulocytenanstieg und Senkung des Hb. und der Erythrocyten mit nachfolgender Steigerung. Bei der Leukocytenzählung fanden wir gewisse Schwankungen ohne bestimmte Regelmäßigkeit. Im weißen Blutbild besteht ziemlich regelmäßig eine Eosinophilie geringen Grades bis 3%, was die amerikanischen Autoren auch beobachtet haben. Beim Menschen fanden Büttner (19) und Schlierbach (20) ebenfalls eine deutliche Eosinophilie.

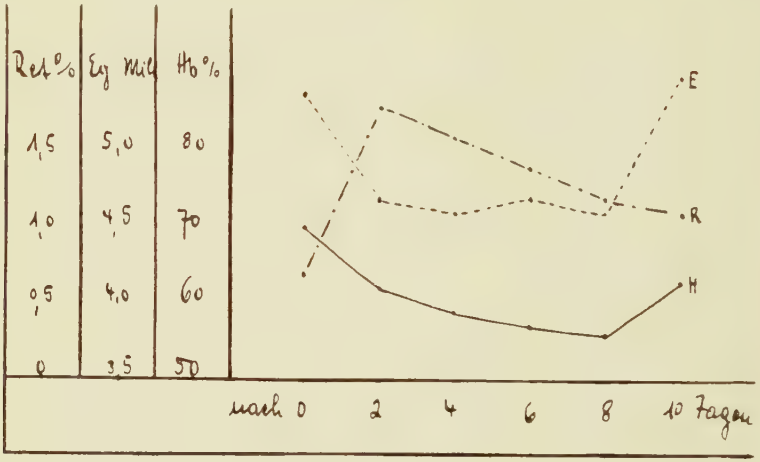
Eine Durchschnittskurve von 4 Kaninchen Hepatrat (Siehe Kurve 3).

Deutliche Senkung des Hb und der Erythrocyten mit später folgendem Anstieg. Die Reticulocytose ist nicht besonders stark ausgeprägt, aber doch deutlich. Bei der Leukocytenzählung bestehen große Schwankungen ohne Regelmäßigkeit. Das Blutbild erwies sich als o. B., keine Eosinophilie.

Bei der Untersuchung von „Heprakton“ (Merk) sahen wir die auffallende Tatsache, daß 2 Kaninchen zu gleicher Zeit nach 9tägiger Injektion gestorben sind. Die Blutwerte erwiesen auffallenderweise bei beiden Tieren dieselben Eigentümlichkeiten, so daß wir sie hier einzeln darstellen wollen: Hepractontier I siehe Kurve 4.

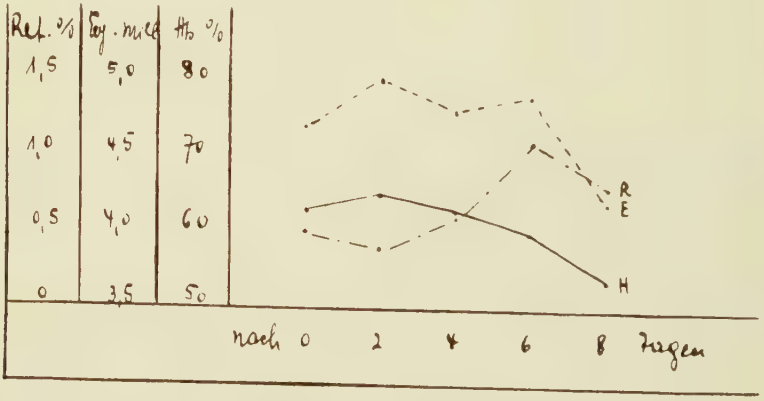
Die Senkung von Hb und Erythrocyten und der Anstieg der Reticulocyten sind noch erkennbar, der spätere Anstieg ist nicht erfolgt. Ein Tag vor dem Tode erwies der Blutbefund eine neutrophile Leukocytose von 74% (Anfang 25%).

Kurve 3.



Hepatrat: tägl. 2 ccm (4 Kaninchen)

Kurve 4 (Hepractontier I).

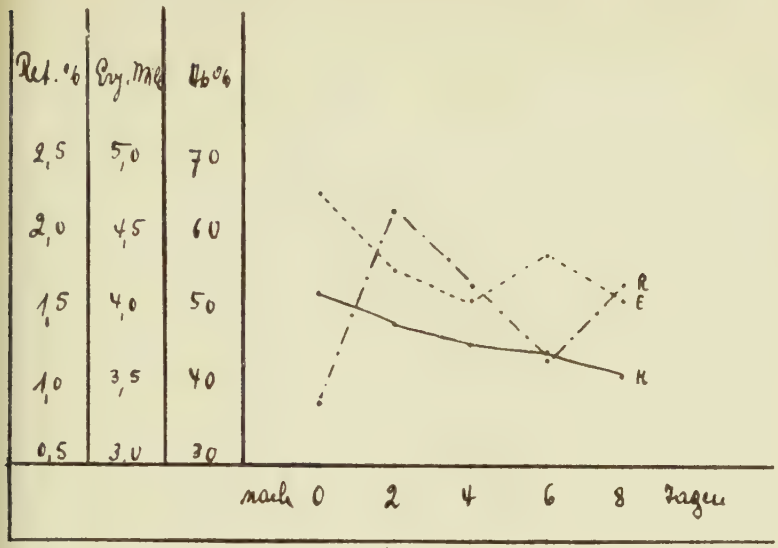


Hepracton: tägl. 1 ccm (Kaninchen weiß)

—— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
–·–·– R = Reticulocyten

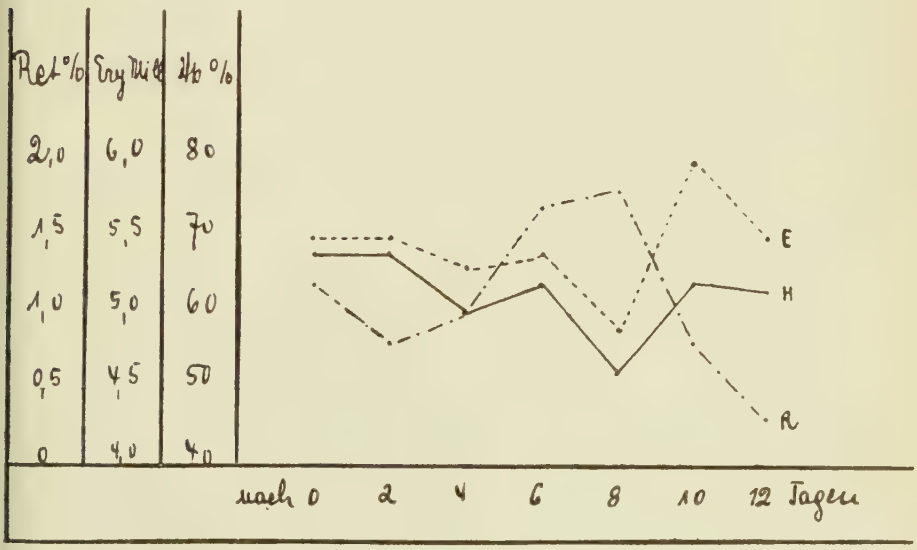
Auch beim zweiten mit Hepracton gespritzten Tier sahen wir eine ziemlich deutliche Senkung von Hb und Erythrocyten mit geringer Reticulocytose. Ein Tag vor dem Tode fand sich eine Myelocytenvermehrung von 62%. Siehe Kurve 5.

Kurve 5 (Hepraktontier II).



Hepracton: tägl. 1 ccm (Kaninchen weiß mit Fleck)

Kurve 6 (Hepraktontier III).



Hepracton: tägl. 1 ccm (Kaninchen Silber)

——— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

Da nach unseren Untersuchungen (s. u.) Hepracton eiweißhalti ist, wäre der Tod wohl durch die Anaphylaxie zu erklären.

Das dritte Kaninchen hat diese Anaphylaxie überstanden un zeigt im Blut nicht sehr deutliche Veränderungen. Siehe Kurve 6.

Spät einsetzender, geringer Reticulocytenanstieg, kein Abfall vo Hämoglobin und Erythrocyten.

Daß die Leber eine Wirkung nicht allein auf die Erythropoes des Knochenmarks hat, berichtet schon Gänßlen. Er fand nämlich daß sein injizierbares Extrakt in vivo eine gerinnungsfördernde Wir kung mit außergewöhnlicher blutstillender Kraft besitzt. Die Bestim mung der Gerinnungszeit zeigte sich nach 1 bis 2 Stunden deutlich verkürzt. Wir haben auch den Eindruck gewonnen, daß bei der Blut entnahme am Kaninchenohr nach Gabe von Leberextrakten, das Blu viel schneller gerinnt als sonst, so daß wir sehr schnell und geschick mit der Saugpipette hantieren mußten, um ungeronnenes Blut für di Untersuchungen zu bekommen.

Eng im Zusammenhang mit der Beobachtung, daß Leberextrakt die Blutgerinnung beschleunigen, steht die Tatsache, daß derartig Extrakte auch eine Thrombocytenvermehrung hervorrufen könne (Gänßlen (18)). Man wird also bei denjenigen bösartigen Anämien die mit Thrombopenie einhergehen (Aleukie) Leberextrakte versuche dürfen.

Die Beeinflussung des Kohlenhydratstoffwechsel durch Leberextrakte.

Bei der Lebertherapie ist die stetige Gewichtszunahme der pern Anämie-Kranken auffällig. Sie geht parallel mit der Besserung des Blut befundes und Allgemeinzustandes. Gänßlen (18) ist der Meinung, da hier eine Parallele zur Insulinmastkur vorläge. Büttner (19) hat mi seinen Schülern die Wirkung der Leber auf den Blutzucker untersuch und kommt zu anderen Ergebnissen. Bei peroral zugeführten Leber extrakten hat er zwar keine Wirkung auf den Blutzucker feststelle können (2), bei Extraktgaben per injektione fand er aber immer ein deutliche Steigerung.

Nun entsteht die erste Frage, wie kommt die Blutzuckersteigerun durch die injizierbaren Leberextrakte zustande?

Wir wissen, daß der Organismus die Neigung hat, seinen artspe zifischen Blutzuckerwert festzuhalten oder nach Änderung möglichs bald wieder zu gewinnen. Die besonderen Einrichtungen für Erre chung dieses Ziels, daß nämlich die Zuckerabgabe aus der Leber i das Blut (Glykogenolyse) mit der Zuckerentnahme aus dem Blut (Ver teilung auf die Organe, Verbrennung, Glykogenbildung in Muskeln gleichen Schritt hält, sind die nervösen (2) und innersekretorische Regulationen. Gewisse Elektrolyte, z. B. das Calciumion, ferner das Ne bennierenhormon (Adrenalin) und auch direkte Sympathicusreizun steigern den Blutzucker. Auch der Zuckerstich wirkt über den Sym pathicus bzw. Splanchnicus durch Adrenalinmobilisierung. Umgekehr senken Kaliumion, Insulin und Vagusreizung den Blutzuckerwert un zwar die letzteren auf dem Wege einer Ausschüttung des Insulin Eiweißnahrung steigert auch den Blutzucker. Deshalb wollte auc

Gänßlen (18) diese „glykogenmobilisierende Wirkung der Leberextrakte auf das Konto von artfremdem Eiweiß setzen", das in dem „Campolon" enthalten ist. Büttner (19) und Lucius (22) haben nun aber feststellen können, daß auch wirklich eiweißfreies Hepatopson dieselbe Wirkung hat.

Es besteht die Möglichkeit, daß irgendein Stoff in den Leberextrakten den Sympathicus reizt und dadurch zur Ausschwemmung des Adrenalins führt und den Blutzucker steigert. In der Tat können nach Basiliou und Zell (Bioch. Z. Bd. 238) Aminosäuren, die sicher im Leberextrakt enthalten sind, den Blutzucker- und Milchsäurespiegel in die Höhe treiben. Nun untersuchten Büttner (19) und Kabel (23) den Blutzucker nach Hepatopson bei Kaninchen, deren Nebennieren exstirpiert waren, ferner den Blutzucker in den refraktären Phasen von durch Morphium vergifteten Kaninchen, wodurch die Nebenniere und das gesamte chromaffine Gewebe erschöpft ist und nicht mehr auf Sympathicusreizung ansprechen kann. Sie fanden, daß die blutzuckersteigernde Wirkung der Leberextrakte unabhängig von der Nebenniere und vom chromaffinen Gewebe auftritt, d. h. unabhängig von der Adrenalinwirkung ist. Jetzt bestehen nur noch zwei Möglichkeiten, die Blutzuckersteigerung zu erklären.

1. durch Reizung des Sympathicus, die direkt zur Blutzuckersteigerung führt;
2. durch ein adrenalinähnliches Hormon, welches blutzuckersteigernd wirkt.

Die Entscheidung wird durch eine weitere Untersuchung zu klären sein.

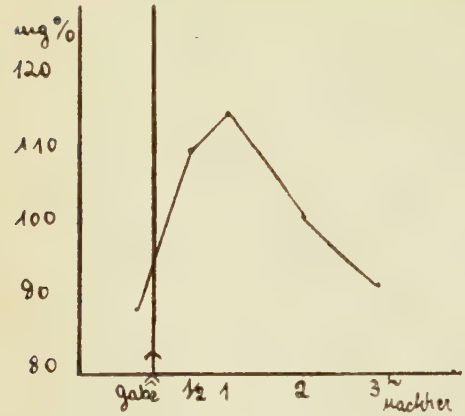
Die 2. Frage lautet, was für eine Substanz in den Leberextrakten diese Wirkung hat? Wie verhält sich dieser Stoff zu dem antianämischen Stoff der Leberextrakte? Es kann nur drei Möglichkeiten geben: Entweder sie sind beide identisch, oder untrennbar gekoppelt oder getrennt (22).

Die vergleichenden Untersuchungen auf Blutzucker von verschiedenen Extrakten, die mehr oder weniger antianämisch wirken, haben ergeben, daß sie auch in gleichem Maße mehr oder weniger den Blutzucker steigern.

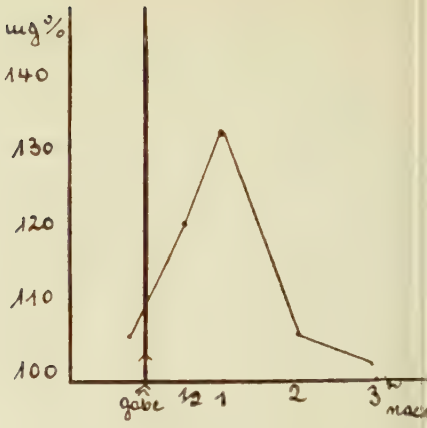
Wir verwenden zur Blutzuckerbestimmung die Methode nach Hagedorn-Jensen (24) und untersuchten Kaninchen nüchtern innerhalb von 3 Stunden mit 5 Bestimmungen und zwar vor der Gabe und dann nach einer halben, nach einer Stunde und nach 2 und 3 Stunden nach der Gabe. Wir zeigen folgende Durchschnittskurve von verschiedenen Extrakten. Siehe Kurve 7, Seite 18.

Wir sehen aus den Kurven, daß Hepatopson, Hepatrat und injizierbares Extrakt von „Degewop", die alle einwandfrei eiweißfrei sind, eine deutliche Wirkung auf den Blutzucker haben. Campolon ist eiweißhaltig, hat auch deutliche Wirkung, während Hepracton, das stark eiweißhaltig ist, eine geringgradigere Steigerung der Blutzuckerwerte hervorruft. Uns ist auffallend, daß diese geringgradige Blutzuckersteigerung auch mit der geringgradigen antianämischen Wirkung im Tierversuch gleichläuft (s. o.). Das französische Präparat

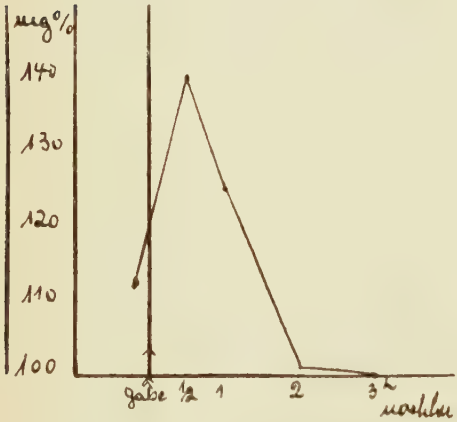
Kurve 7.



Hepatopson (4 Kaninchen)

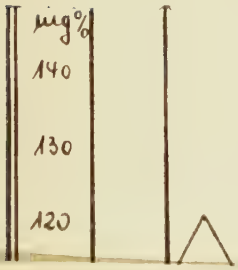


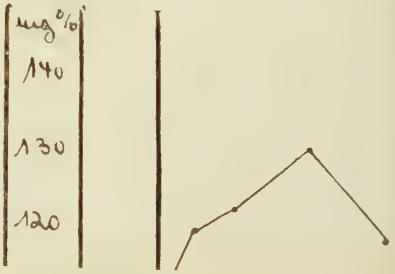
Campolon (4 Kaninchen)



Hepatrat (4 Kaninchen)

H = Hämoglobin
E = Erythrocyten
R = Reticulocyten





„Hämostra", ein Gemisch von Tryptophan und Histidin zeigt beim Tierversuch eine geringgradige primär anämisierende Wirkung, eine Reticulocytose, aber keinen späteren Hb- und Erythrocytenanstieg (18). Die Untersuchung des Blutzuckers nach Gaben von „Hämostra" ergibt eine immer wiederkehrende geringgradige, an der Fehlergrenze liegende Steigerung (22). Die Ansicht Gänßlens, daß die glykogenmobilisierende Wirkung auf Eiweiß zurückzuführen ist, ist hiernach abzulehnen. Die Vermutung (Büttner (19)), daß die antianämischen Stoffe mit den blutzuckersteigernden Stoffen identisch oder gekoppelt wären, und dadurch die Wirksamkeit der Leberextrakte durch diese blutzuckersteigernde Wirkung zu standardisieren ist, ist sehr wahrscheinlich geworden.

Wenn sich dies wirklich so verhielte, dann hätten wir eine sehr bequeme Methode zur Prüfung der Wirksamkeit der Leberextrakte gefunden. Wir könnten uns vorher in wenigen Stunden durch Blutzuckerbestimmung über die Wirksamkeit orientieren.

Durch diese Blutzuckersteigerung kommt deutlich zum Ausdruck, daß bei der Lebertherapie irgendeine Einwirkung auf die Leber selbst erfolgt. Die Untersuchungen von Ederle und Kriech zeigen, daß der Leberglykogenvorrat durch dauernde Leberextraktinjektionen bis zum Minimum herabgesetzt werden kann. (Diese Versuche wurden allerdings mit einem eiweißhaltigen Präparat gemacht). Diese Ergebnisse sind mit der Blutzuckersteigerung durch Leberextrakte durchaus in Einklang zu bringen. Durch die dauernde Glykogenolyse kann die Leber eines Tages in ihrem Vorrat erschöpft werden. Wir haben zufälligerweise nach 10tägigen Injektionen von Hepatopson-Alkoholfällung, die eine sehr geringe Steigerung von Blutzucker erzeugt (s. u.), den Blutzucker untersucht; es blieben die Steigerungen aus. Dieses Nichtreagieren kann daher kommen, daß der Leberglykogenvorrat erschöpft ist. Auch der Zuckerstich ist ja wirkungslos, wenn die Leber glykogenfrei ist. Nun haben wir das Kaninchen sich 6 Tage lang erholen lassen und nach Injektionen desselben Extraktes den Blutzucker wieder untersucht. Der Blutzucker steigt dauernd in die Höhe und fällt nach 5 Stunden noch nicht herunter.

	Nüchtern	1/2	1	2	3	4	5h nach
3. III.	111 mg %	140	112	115	103		Gabe
16. III.	111 mg %	103	114	105	107		
22. III.	115 mg %	117	155	151	151	141	138
	↓ Gabe						

Wie kann man dies erklären? Bei Hungerdiabetes ist das Leberparenchym durch Glykogenarmut so geschädigt, daß die Glykogensynthese nicht mehr in normalem Tempo erfolgt und eine langdauernde Blutzuckersteigerung bei Lävulosebelastung resultiert. Liegt hier in unserem Fall auch ein ähnlicher Vorgang vor oder wäre es nur ein Zufall? Es sind zu wenig Versuche, um daraus irgendwelche Schlüsse ziehen zu können. Wir erwähnen dieses nur deshalb, um weitere Untersuchungen in dieser Richtung anzuregen.

Nun konnte Büttner (19) zeigen, daß die nach der Gabe von 100 g Lävulose beobachtete Blutzuckersteigerung durch Hepatopson gesteigert werden kann. Diese Wirkung ist auch mit Campolon zu erzielen, also allgemein bei Leberextrakten. Wir können uns dieses wohl so vorstellen, daß die Leber durch die Leberextrakte in einen ganz anderen Reaktionszustand versetzt worden ist. Die Leber ist dadurch viel empfindlicher geworden gegen Lävulosebelastung.

Die zahlreichen Untersuchungen von Büttner haben ergeben, daß die Beteiligung der Leber bei der Blutzuckersteigerung durch Leberextrakte ein sehr komplizierter Vorgang ist. Er konnte zeigen (21), daß Leberextrakte peroral gar keine Wirkung auf den Blutzucker haben, daß sie aber bei völligem Gallengangsverschluß den Blutzucker steigern. Er konnte weiter zeigen, daß Gallensäure (Decholin) bei völligem Gallengangsverschluß sowohl peroral als auch parenteral starke Blutzuckersteigerung hervorruft, was sonst starke Senkung des Blutzuckers durch Ausschüttung von Pankreasinsulin bewirkt. Eine Erklärung dafür zu geben ist schwer. Man könnte sich aber vorstellen, daß durch den Gallengangsverschluß wieder ein ganz anderes Verhältnis in der Leber vorliegt, so daß sie zur paradoxen Reaktion führt. Es könnte ähnlich sein, wie beim vegetativen Nervensystem, was je nach dem verschiedenen Ausgangswert ganz verschieden auf Pharmaka reagiert (25).

Ob der klinische Erfolg, das Auftreten des Hungergefühls und des gesteigerten Appetits mit nachfolgender Gewichtszunahme infolge einer insulinähnlichen Wirkung der Leberextrakte auf die an Glykogen verarmte Leber zu erklären ist, wie Gänßlen (18) es tut, erscheint uns nicht wahrscheinlich, da der Erfolg auch durch Leberessen erzielt wird und wir wissen, daß Leberextrakte peroral keine Blutzuckersteigernde Wirkung haben, und daß hierbei eine Verarmung an Leberglykogen zum mindesten nicht zu beweisen ist.

Theorien der Leberwirkung.

Wenn auch die Lebertherapie beste Heilerfolge verspricht, so hat sie doch die Erforschung der Pathogenese der Anämie nicht gefördert. Wir sind im Gegenteil bei der Erklärung der Wirkungsweise auf die noch reichlich hypothetische Pathogenese der perniciösen Anämie angewiesen.

Die Anhänger der Giftgenese suchen die Wirkung der Leber in einer Entgiftung bzw. Neutralisation. Wir sehen, daß pern. Anämie-Kranke wieder Rezidive bekommen, wenn die Lebertherapie unterbrochen wird. Wir finden hier die gleichen Verhältnisse wie bei der Bothriocephalusanämie: die Kranken bessern sich unter Lebertherapie ohne Austreibung des Wurmes, bei Unterbrechung der Lebertherapie sind aber die Krankheitserscheinungen wieder da. Seyderhelm hat auf dem Wiesbadener Kongreß in einem Referat hierzu gesagt, es sei „als ob ein Kranker mit Bothriocephalus sein Leben lang erfolgreich mit Leber gefüttert und dabei den Bothriocephalus weiter beherbergte." Die eigentliche Noxe bleibt offenbar im Körper bestehen. Die Giftwirkung wird unschädlich gemacht (8). Er nimmt an, daß das Knochenmark durch dieses Gift geschädigt ist.

Viele Schwermetalle haben günstige Wirkung auf die Blutbildung, so z. B. As, Fe, Cu u. a. Man nimmt an, daß diese Metalle einen Reiz auf das Knochenmark ausüben, indem sie die Bildung des Stroma und die Synthese des Hb durch einen „katalytic effect" beschleunigen (cit. K. W. Schulze(3)). So wollten auch einige Autoren die Heilwirkung der Leber auf die ihr enthaltenen Schwermetalle beziehen. Dagegen spricht die allgemeine klinische Erfahrung: Eisen wirkt bei perniciöser Anämie nicht. Dagegen sprechen auch unsere Untersuchungen des Eisengehaltes verschiedener Extrakte (s. Tabelle II). Danach enthalten wirksame Extrakte nur Spuren von Eisen. Auch haben amerikanische Autoren nachweisen können, daß vollständig Cu-freie Leberextrakte wirksam sind. Die Erfolglosigkeit der Metallbehandlung könnte man sich in folgender Weise gut vorstellen: Dieser „katalytic effect" kommt nur dann zur Geltung, wenn die Bildungsstätte normal und gesund ist, was bei pern. Anämie wahrscheinlich nicht der Fall ist.

Vergleichende Untersuchungen von Lucius(22) haben gezeigt, daß die blutzuckersteigernde Wirkung verschiedener Leberextrakte unabhängig von der Dosis ist. Deshalb hat er die Wirkung durch Mobilisation eines Hormons in der Leber durch einen hypothetischen Stoff zu erklären versucht. Die Nachprüfung hat ergeben, daß die Blutzuckersteigerung, wenn auch in geringem Grade, von der Größe der Dosis abhängig ist. Es scheint, daß die Blutzuckersteigerung doch durch direkte hormonale Wirkung hervorgerufen wird. Da nach unseren bisherigen Untersuchungen die blutzuckersteigernde und die antianämische Wirkung immer zugleich in Erscheinung tritt, so ist es sehr wahrscheinlich, daß es auch dasselbe Hormon der Blutzuckersteigerung ist, welches antianämisch wirkt. Daß ein Hormon verschiedene Wirkung haben kann, ist uns im Organismus bekannt, z. B. Schilddrüsenhormon steigert den Blutzucker auch.

Die französischen Autoren Fontès und Thivolle(26) und auch die amerikanischen Forscher, wie z. B. die Entdecker der Lebertherapie Minot und Murphy, suchen die Pathogenese der perniciösen Anämie durch Mangel an Bausteinen und die Leberwirkung entsprechend als Substitutionswirkung zu erklären. Sie gehen von der Vorstellung aus: Der gesamte Verdauungskanal bei der pern. Anämie ist geschädigt. Das Fehlen der Magenverdauung und die Schädigung der Pankreas- und der Darmfermente verhindern die Entstehung normaler Spaltungsprodukte der Proteine, und die gebildeten Polypeptide werden nicht oder nur schlecht resorbiert. Auf diese Weise würden gewisse Aminosäuren, z. B. Bausteine des Hämoglobins dem Körper nur unvollkommen zur Verfügung gestellt, da der kranke Organismus diese nicht mehr aus der Eiweißnahrung in genügender Menge isolieren kann. Fontès und Thivolle glaubten nun in Tryptophan und Histidin die in Frage kommenden Bausteine zur Hämoglobinsynthese sehen zu dürfen, während die amerikanischen Autoren, vor allem West und Howe Oxyprolin und Oxyglutaminsäure (s. u.) als das wirksame Prinzip gefunden zu haben glaubten. Diese Vorstellung darf man nicht kritiklos aufnehmen, da schon a priori einige Bedenken dagegen sprechen.

I. Die Annahme einer mangelhaften Spaltung ist unvereinbar mit der erfolgreichen peroralen Leberwirkung. Denn, wenn es der Fall wäre, dann müßte man voraussetzen, daß die Aminosäuren, bzw. Bausteine, in der Leber oder in dem Extrakte schon frei enthalten sein müssen, was sehr unwahrscheinlich ist.

II. Gänßlen weist darauf hin, daß die Leberextrakte parenteral viel wirksamer sind. Es ist wiederholt beobachtet worden, daß bei fortgeschrittenem Krankheitszustand der Patient sich gegen perorale Lebertherapie resistent verhält, während er gegen Leberextrakte parenteral gegeben prompt reagiert. Alles dieses verbunden mit den pathologisch anatomischen Veränderungen des Verdauungsstraktus bei pern. Anämie spricht dafür, daß eine Störung der Resorption im Darmkanal im Sinne einer Einschränkung tatsächlich vorliegen muß. Aber die erfolgreiche Heilung der pern. Anämie durch das Leberessen deutet darauf hin, daß der Organismus trotz der gestörten Resorption genügende Bausteine isolieren kann, wenn diese nur im Überschuß vorhanden sind. Da wir nun wissen, daß in der Eiweißnahrung diese Aminosäuren in reichlicher Menge enthalten sind, dürfte die pern. Anämie bei reichlicher Eiweißnahrung eigentlich nicht vorkommen. Daß ein Patient mit fortschreitender Resorptionsstörung nur unter Mangel an Bausteinen zu Hb-synthese leidet, ohne eine andere bemerkbare Ernährungsstörung, kann man sich nur denken unter der Voraussetzung der partiellen Insuffizienz des Verdauungskanals gegenüber diesen Substanzen. Diese Voraussetzung ist aber wohl sehr unwahrscheinlich!

III. Wenn die Pathogenese der pern. Anämie wirklich in dem Mangel an Bausteinen des Hb-synthese zu suchen ist, dann müßte man experimentell durch Fütterung ohne diese Substanzen ein pern. Anämie-Krankheitsbild erzeugen können. Dies ist aber bis jetzt nicht gelungen.

Die theoretischen Bedenken lassen sich durch experimentelle Untersuchungen noch verstärken: Wir gehen von folgenden Gedanken aus: Nach den erwähnten Autoren sind die für die Anämie verantwortlich gemachten Substanzen, Aminosäuren, d. h. stickstoffhaltige Substanzen.

Wenn diese These richtig ist, so kann man ohne weiteres folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1. daß die wirksamsten Leberextrakte zugleich auch am meisten stickstoffhaltig sind, die Wirksamkeit wäre proportional dem Stickstoffgehalt.
2. daß die Menge der rein dargestellten Stoffe an Stickstoff bzw. Trokkensubstanz, die von den Autoren eben als wirksam angegeben wird, dem Gehalt der Leberextrakte an Stickstoff und Trockensubstanz, die auch eben antianämisch wirken, entsprechen muß.

Wir untersuchten die verschiedenen im Handel befindlichen Extrakte und prüften sie auf diese beiden Fragen. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigt Tabelle 2.

ad 1. Wir sehen aus der Tabelle, daß gerade dasjenige Präparat, welches sich uns klinisch und tierexperimentell als besonders wirk-

sam erwiesen hat (Hepatopson) besonders stickstoffarm ist. Das durch hohen Stickstoffgehalt ausgezeichnete Extrakt „Hepatrat" ist nach unseren klinischen Erfahrungen nicht wirksamer als z. B. das Campolon, welches wenig Stickstoff enthält (s. Kurve 2).

Tabelle 2.

	Heprakton (Merk)	Leberextrakt pro injekt. (Degewop)	Hepatopson
	g in 100 ccm	g in 100 ccm	g in 100 ccm
Trockenrückstand	7,7	6,1	5,5
Asche	1,4	0,7	0,3
Eisen	Spuren	Spuren	0,01—0,02
Calcium	0,016	0,014	0,02—0,04
Schwefel	0,18	0,06	0,05
Phosphor	0,26	0,15	0,07
Stickstoff	0,64	0,64	0,50
Natriumchlorid	0.36	nicht untersucht	0,16

	Hepetrat (Nordmark)	Campolon (I. G. Farbenind.)
	g in 100 ccm	g in 100 ccm
Trockenrückstand	22,7	7,2
Asche	2,4	1,1
Eisen	Spuren	Spuren
Calcium	0,007	0,02
Schwefel	0,16	0,17
Phosphor	0,3	0,2
Stickstoff	2,0	0,4
Natriumchlorid	1,0	nicht untersucht

ad 2. Das französische Präparat Hämostra ist in Form einer Injektionslösung, die diese Aminosäure im Verhältnis 1 : 2 enthält, uns zur Verfügung gestellt worden. Nach Angabe der Firma enthält jeder ccm 0,02 g Tryptophan und 0,04 g Histidin. Die übliche Dosis, eine Ampulle zu 5 ccm, enthält 0,1 g Tryptophan und 0,2 g Histidin, d. h. insgesamt 0,3 g Trockensubstanz. Nun vergleichen wir mit der Tagesdosis die Trockensubstanz von Hepatopson und Campolon:

	Hämostra	Hepatopson	Campolon
Trockensubstanz in 100 ccm	6,6	5,5 g	7,2 g
in einer Tagesdosis	0,3 g (5 ccm)	0.11 g (2 ccm)	0,144 g (2 ccm)

Wir sehen also, wie niedrig die Werte an Trockensubstanz der beiden Extrakte im Vergleich zu Hämostra sind! Die Tagesdosen an Stickstoff zeigen dieselben Unterschiede:

	Hämostra	Hepatopson	Campolon
Stickstoff in	0,1 g T. davon ca. $^1/_{10}$ N = 0,01 g 0.2 g H, davon ca. $^1/_4$ N = 0,05 g	0,5 g in 100 ccm	0, 4 g
Tagesdosis	0.06 g	0,01 (2 ccm)	0,008 8

Die von West und Howe krystallinisch dargestellte Substanz „Oxyprolin" (27) erzeugte erst in Dosen von ca. 0.3 g intravenös (nach Entfernung des Chinins) eine Reticulocytose, der Stickstoffgehalt dieser Menge ist ungefähr 0,03 g, was im Vergleich mit der Menge unserer Extrakte viel höher ist[1]).

Die wirksamen Prinzipien der Leberextrakte.

Wenn wir auch die beiden Aminosäuren Oxyglutaminsäure und Oxyprolin als die wirksamen oder allein wirksamen Prinzipien abgelehnt haben, so wollen wir doch die Forschungsarbeit der beiden amerikanischen Autoren genau verfolgen und betrachten.

Die amerikanischen Forscher, vor allen Cohn, Minot und Murphy u. a. (28) gingen von der rohen, zerkleinerten Leber aus, der sie Alkalie bis zu pH 9 zusetzten. Es resultierte ein wasserlösliches Präparat und ein durch Alkali gefällter unlöslicher Rest (A). Der unlösliche Rest enthielt im wesentlichen Eiweiß, Fett und Kohlehydrat, er ist unwirksam bei perniciöser Anämie. Das lösliche Extrakt wird weiter durch Salzsäure zum pH 5 gebracht. Die durch Säure fällbaren Proteine (B) werden vom Extrakt entfernt und das Extrakt wird bis 70° erhitzt, um es weiter von den durch Hitze koagulierbaren Proteinen zu befreien. In den beiden Proteinfällungen (B + C) sind keine aktiven Prinzipien. Die proteinfreien Extrakte (D) sind nicht so wirksam wie die Leber, deshalb haben die Autoren (Cohn, Minot u. a.) geschlossen, daß die aktiven Prinzipien durch das langdauernde Konzentrationsverfahren bei der hohen Temperatur teilweise zerstört seien. Sie haben dann das ganze Verfahren im Vakuum bei 60° ausgeführt, und auf diese Weise hergestellte Extrakte hatten dann wieder die volle Wirksamkeit. Das wirksame Extrakt wurde ferner mit Äther behandelt (C), und es fand sich, daß die aktiven Prinzipien durch Äther nicht extrahiert werden, also kann der wirksame Stoff kein Lipoid sein. Das wasserlösliche Extrakt wird mit absolutem Alkohol behandelt. Das in Alkohol lösliche Extrakt erwies sich als unwirksam, während in der Alkoholfällung, gelöst in Wasser (G) die aktiven Prinzipien enthalten sind.

Rohe, zerkleinerte Leber
in pH 9
unlösl. Rest (A) — in Wasser lösl. Extrakt
in pH 5
durch Säure fällbare Proteine (B) — in Wasser lösl. Extrakt
in Hitze bis zu 60°
durch Hitze koagulierte Proteine (C) — in Wasser lösl. Extrakt (D)
extrah. mit Aether
in Aether lösl. Extrakt — in Wasser lösl. Extrakt
mit Alkohol gefällt
in Alkohol lösl. Extrakt (E) — in Wasser lösl. Alkoholfällung (G)

[1]) Nach Abschluß unserer Arbeit haben die Autoren diese Untersuchung widerrufen. Es ist wiederum ein Beweis, daß unsere Ansicht bestätigt worden ist.

Diesem Extrakt (G) entsprechend ist in Amerika unter Kontrolle des Commitees f. pern. Anämie-Behandlung von der Firma Elli Lylly u. Co. ein Extrakt unter dem Namen „Liver Extract no. 343" (29) in den Handel gekommen.

Von diesem Extrakt gehen alle Forschungen nach dem wirksamen Prinzip in Amerika aus.

Cohn u. a. aus Boston gingen noch weiter, indem sie das durch Alkohol gefällte und wasserlösliche Extrakt (G) durch eine Pergamentmembran dialysieren ließen. Die Fraktion in der Membran ist unwirksam. Auf ein Extrakt nach Ultrafiltration durch eine Collodiummembran bei niedriger Temperatur, bekam ein Patient eine schwache Reticulocytose. Die Moleküle der aktiven Substanz scheinen also eine eben dialysierbare Größe zu haben.

In der Vorstellung, daß das wirksame Prinzip ein Vitamin B sei, haben Cohn u. a. die Methode von Levene und van der Heeven angewandt, um Vitamin B zu isolieren. Die Probe fiel negativ aus, da die wirksamen Prinzipien von Kieselsäure-Gel bei pH 5 nicht absorbiert werden, also im Filtrat bleiben.

Die aktive Substanz wird durch Butylalkohol extrahiert und mit Bleiacetat nicht gefällt. Die Bleiacetatfällung enthält in der Hauptsache Kohlehydrate, also kann die aktive Substanz kein Kohlehydrat sein.

Sowohl Cohn, Minot, Alles und Salter, als auch West und Howe (27) kommen zu demselben Ergebnis, daß durch Phosphorwolframsäure die aktive Substanz gefällt wird. Diese in Wasser lösliche P.W.S.-Fällung wird mit Aceton gefällt, wobei auch die aktive Substanz mitextrahiert ist. Cohn u. a. geben von ihrer in Aceton löslichen P.W.S.-Fällung folgende Farbreaktionen an:

N = 18,7 %	
Molisch	—
Schwefelbleireaktion	+
Xanthoprotein	(+)
Adamkiewicy	+
Tollens Reagens	—
Biuret	+
Millon	+
Diazo	+
Dimethylaminobenzaldehyd	+

West und Nicohls (30) haben die P.W.S.-Fällung, auf deren Einzelheiten in der Darstellung wir hier nicht eingehen wollen, weiter mit Aceton und Barytwasser behandelt. Dadurch gelangten sie zu einer Fraktion, die in einer Dosis von 3,0 g täglich einen deutlichen Heilerfolg erzielte. Der Stickstoffgehalt dieser Fraktion betrug 12 bis 14%, kein P, Spuren von Schwefel, kein Eisen und kein Cu. Biuret +, Diazo +, die Naphtalprobe auf Arginin +, Hopkins-Cole +. Polarimetrisch schwache Linksdrehung.

Die letzte Angabe von West und Howe über ihre Fraktion (27, 31), wo sie die krystallinischen Substanzen isolieren konnten, ist folgende:

C 46,6%	H 6,9%	N 10,6%
Diazo —	Molisch —	

Permanganatreduktion in Säure — in Alkali (+)
abgesehen von P.W.S. und P.molybdänsäure keine Fällung mit gewöhnlichen Basenreagenzien wie Pikrinsäure, Flaviansäure, Goldchlorid usw.

Die Angaben sind etwas verschieden, was wohl seinen Grund darin hat, daß die Einzelheiten im Verfahren der Extraktion etwas verschieden sind.

Wir sehen, daß die Amerikaner mit Fraktionen und Extrakten, die große Mengen Stickstoff enthalten, operierten, während die Extrakte hier in Deutschland gerade durch ihren geringen Gehalt an Stickstoff ausgezeichnet sind (s. Tab. 2). Die deutschen Extrakte sind meistens Preß-Saft (16): Leber von gesundem Schlachtvieh wird fein zerkleinert und unter hohem Druck ausgepreßt. Die Preß-Säfte werden mit den üblichen Methoden enteiweißt und für die Injektion sterilisiert. Die amerikanischen Extrakte sind Wasserauszüge (29). Der starke Stickstoffgehalt kann seinen Grund vielleicht darin haben, daß das Wasser auch N-haltige Substanzen des Lebergewebes extrahiert. Hepatrat hat auch einen hohen Stickstoffgehalt. Nach privaten Mitteilungen wird dieses Extrakt genau so dargestellt wie die amerikanischen Präparate.

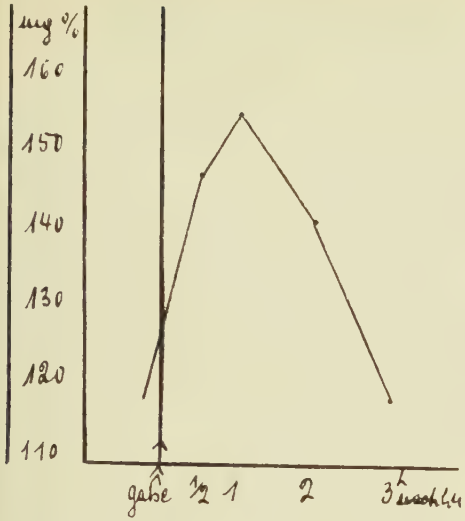
Ob wässrige Auszüge oder Preßsäfte wirksamer sind, ist zur Zeit noch nicht zu entscheiden. Whipple (32) hat berichtet, daß Liverextract no. 343 nur 10—12% so wirksam ist als die Leber peroral. Gänßlen (18) berichtete über die Wirksamkeit seines Preßsaftes, daß er an Wirksamkeit die Rohleber übertreffe, mindestens aber gleichwertig sei.

Von dem stickstoffarmen Extrakte „Hepatopson" aus sind wir auch den wirksamen Prinzipien nachgegangen. Als Testobjekt der Wirkung verwandten wir die oben schon beschriebene Blutzuckerbestimmung und die kombinierte Untersuchung auf Retikulocyten, Hämoglobin und Erythrocyten am gesunden Kaninchen.

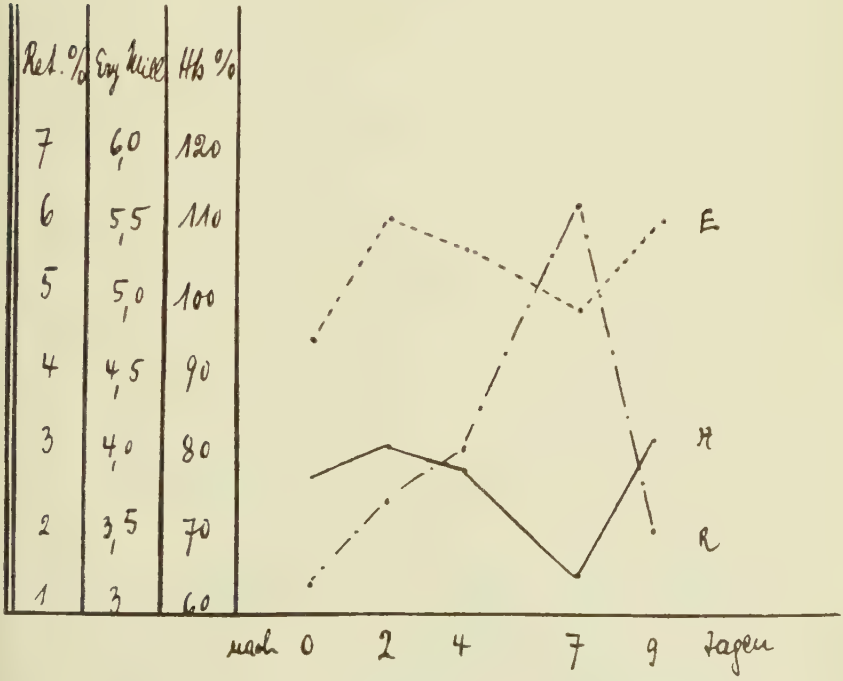
Wir haben das Extrakt zuerst bis zu 70° eine halbe Stunde erhitzt und dem Kaninchen intraglutär jeden Tag 2 ccm gegeben. Am 1. Tag bestimmten wir die Blutzuckersteigerung nach der Gabe, und nachher verfolgten wir alle 2—3 Tage die Blutwerte. Die Durchschnittskurve von Blutzucker und Blutwerten (von 5 Kaninchen) geben wir auf Seite 27, Kurve 8, bekannt.

Wir sehen, daß die Wirksamkeit des Extraktes auf Blutzucker und Blutbild durch Hitze nicht verändert wurde. Das wirksame Prinzip ist also thermostabil. Diese Tatsache spricht vollkommen mit anderen Erfahrungen überein: Die erfolgreiche Behandlung der pern. Anämie durch gekochte und gebratene Leber. Durch Tierversuche konnte Whipple zeigen, daß die Leberextrakte, in denen er das Eiweiß auf verschiedene Weise durch hohe Temperaturen koagulierte, stets wirkungsvoll blieben. Die Angabe von Cohn u. a., daß die aktive Substanz durch längeres Erhitzen zerstört werde, muß also revidiert werden. Die Tatsache, daß im Sommer 1928 die Extrakte in Amerika in

Kurve 8.



Blutzuckerdurchschnittskurve
(am 1. Tag des Versuchs)



Hepatopson Hitze (5 Kaninchen)

——— H = Hämoglobin
- - - - - E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

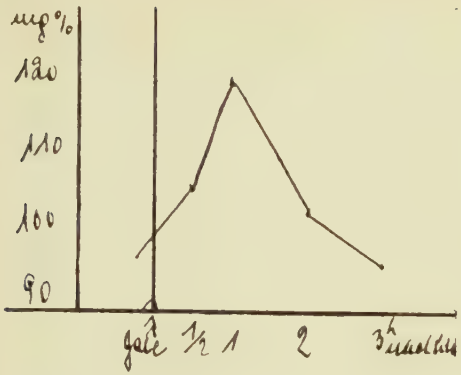
den Zeiten besonders großer Nachfrage schwächer waren, als diejenigen, die 5 Monate vorher im Handel waren und da gerade in jener Zeit auch das in Deutschland hergestellte Hepatrat vorübergehend an Wirkung eingebüßt hatte, ließ die Autoren daran denken, daß hieran vielleicht die extreme Hitze der Sommermonate des Jahres 1928 die Schuld getragen habe (cit. n. Seyderhelm (8)). Die Überlegung ist sicher nicht richtig, da der amer. „Liverextract no. 343" selbst schon bei Temperatur bis 80° Cels. hergestellt ist, und selbst die extreme Hitze der Sommermonate bleibt natürlich unter dieser Grenze.

Daß das aktive Prinzip durch absoluten Alkohol gefällt wird, haben die amerikanischen Forscher schon berichtet. Da damit eine einfache Methode gegeben wäre, das wirksame Prinzip in konzentrierter Form zu gewinnen, haben wir untersucht, ob tatsächlich das wirksame Prinzip absolut alkoholunlöslich ist. Wir haben deshalb wirksame Leberextrakte (Hepatopson) mit zweifachen, dreifachen und vierfachen Volumen Alkohol behandelt, d. h. wir arbeiteten mit Alkoholen steigender Konzentration (d. h. 60%, 75% und 90% alkoholische Lösung).

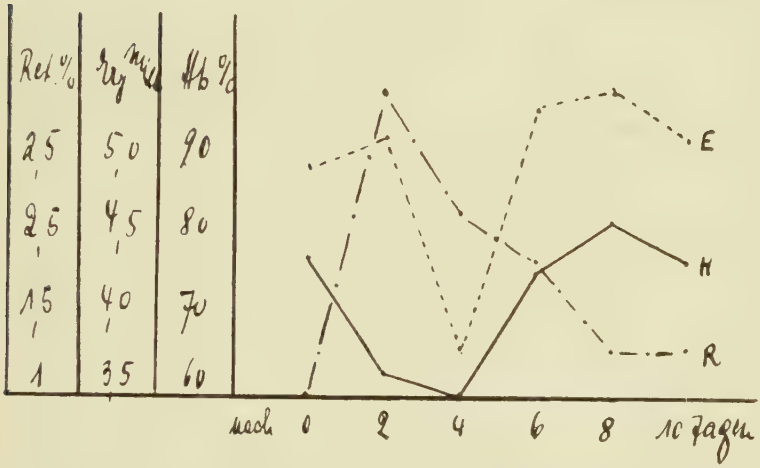
Das Ergebnis dieser Versuche zeigen die Abbildungen Nr. 9, 10 und 11 (S. 29, 30 u. 31). Wir sehen daraus, daß durch 60% Alkohol die Wirkung weder auf das Blutbild noch auf den Blutzucker abgeschwächt wird (Durchschnittskurve aus 4 Versuchen). Bei der 75% Lösung ist von der Wirkung auf den Blutzucker nicht mehr viel übrig geblieben, während wenigstens in der ersten Woche die Wirkung auf das Blutbild noch zu sehen ist. Es fehlt aber der Anstieg des Hb. in der zweiten Phase (Durchschnitt aus 5 Versuchen). Durch die Behandlung mit 90% Alkohol ist die Wirkung auf den Blutzucker vollständig aufgehoben. Es tritt jetzt sogar eine Senkung ein. Auch das Hämoglobin sinkt kaum und steigt in der zweiten Phase nicht. Die Wirkung auf die Erythrocyten ist ebenfalls abgeschwächt. Lediglich die Reticulocyten steigen deutlich an, aber nicht mehr so stark wie sonst (Durchschnitt aus 3 Versuchen). Wir schließen daraus, daß mit steigender Alkoholkonzentration immer mehr von der wirksamen Substanz entfernt wird, und zwar das blutzuckersteigernde Agens ebenso wie das blutwirksame. Also auch in bezug auf ihr Verhalten zu Alkohol sind beide Substanzen gleich. Eine Identität daraus abzuleiten wagen wir nicht, da die blutzuckersteigernde Substanz eher verschwindet. Andererseits ist hieraus aber auch nicht der Schluß zu ziehen, daß sie nicht identisch sind, da eine Substanz in geringer Dosis eventuell auf das Blutbild noch wirken kann, auf den Blutzucker aber nicht mehr.

Die Senkung des Blutzuckers durch Extrakte, die mit stark konzentriertem Alkohol behandelt sind, ist bemerkenswert. Wenn auch diese senkende Wirkung noch innerhalb der Fehlergrenze liegt, so ist doch die immer gleichmäßige Senkung sehr auffällig. Wie kann man dieses Phänomen erklären? Die amerikanischen Autoren Blottner und Murphy (33) haben gezeigt, daß in der Leber eine insulinähnliche blutzuckersenkende Substanz vorhanden ist, die durch Alkohol extrahiert wird. Zu gleicher Zeit berichtete der Japaner Schinmen (34), in der Leber solche Substanzen gefunden zu haben. Daß die in Frage

Kurve 9.



Blutzuckerdurchschnittskurve
(am 1. Versuchstag)



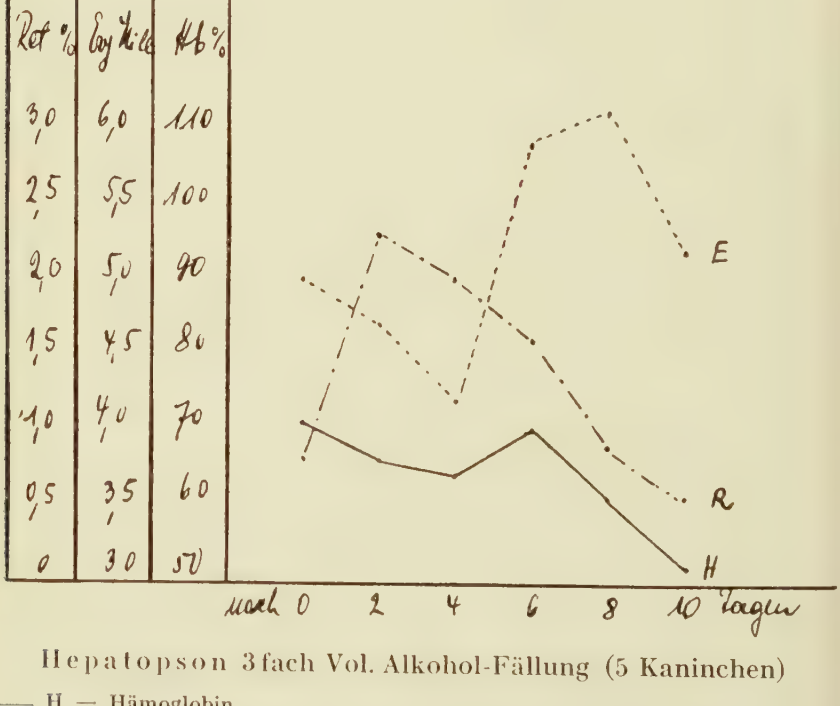
Hepatopson 2fach Vol. Alkohol-Fällung (4 Kaninchen)

——— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
–·–·– R = Reticulocyten

kommende Substanz eine Gallensäure sei, die auch eine Blutzuckersenkung durch Ausschüttung des Insulins bewirkt, ist nicht anzunehmen, da nach Büttner (nicht veröffentlichte Analyse) das Hepatopson nur minimalste Mengen Gallensäure enthält (unter 0,05 mg pro ccm). Die blutzuckersenkende Wirkung dieser Substanz tritt in der mit vierfach Vol. Alkoholfällung erst in Erscheinungen, als nämlich die blutzuckersteigernde Substanz durch wiederholte Behandlung mit Alkohol bereits entfernt war. Wir können daraus entnehmen, daß in der Leber verschiedene Substanzen enthalten sein können, die anta-

Kurve 10.

Blutzuckerkurve am 1. Tag



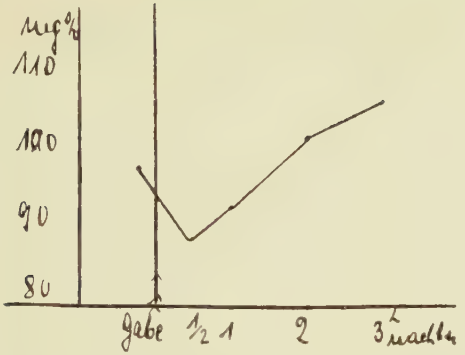
Hepatopson 3fach Vol. Alkohol-Fällung (5 Kaninchen)

——— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

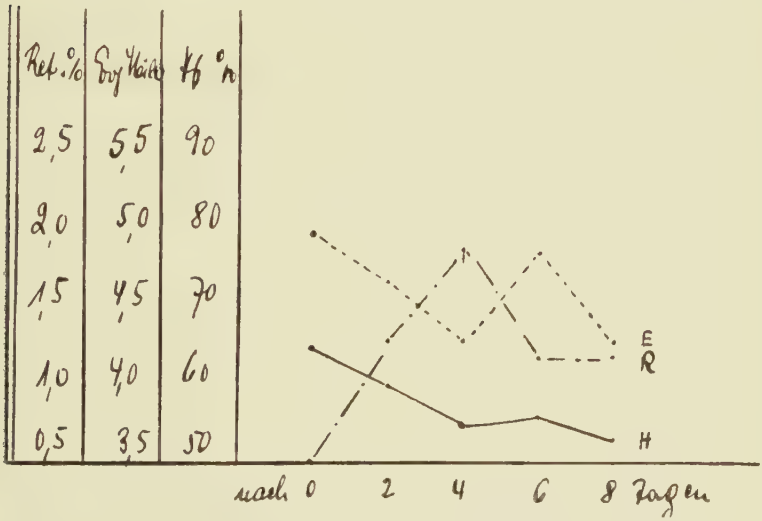
gonistisch wirken und sich in der Auswirkung einmal summieren ein anderes Mal aufheben.

Die Blutveränderungen, Reticulocytose, Senkung des Hämoglobins und der Erythrocyten mit späterem Anstieg, werden von allen 3 Fällungen erzielt, zeigten aber deutlich eine gewisse abnehmende

Kurve 11.



Blutzuckerkurve (am 1. Versuchstag)



Hepatopson 4fach Vol. Alkohol-Fällung (3 Kaninchen)

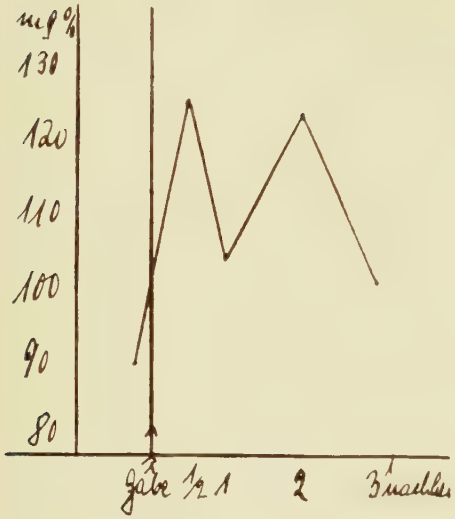
——— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

Tendenz. Deshalb muß man annehmen, daß durch Alkohol ein Teil der wirksamen Substanz entfernt, und daß durch steigende Alkoholkonzentrationen die Entfernung immer vollständiger wird.

Ferner untersuchten wir die Wirksamkeit von durch Ph.W.-säure gefällten Extrakten aus stickstoffarmen Hepatopson. Wir zeigen eine Durchschnittskurve von 2 Kaninchen nach Behandlung mit P.W.S.-Fällung auf Seite 32, Kurve 12.

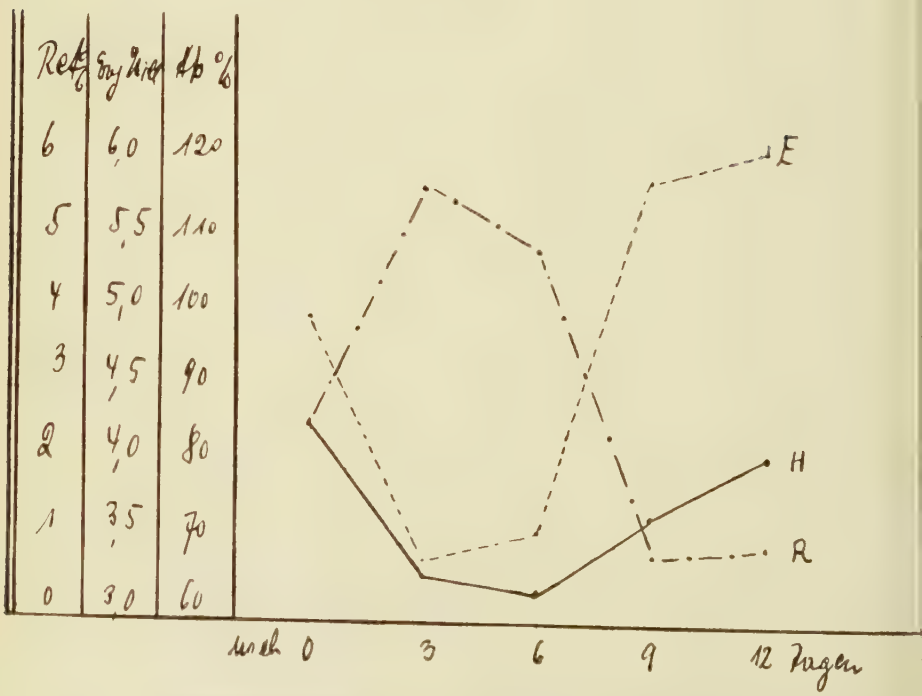
Wir sehen, daß der Blutzucker nach der Gabe deutlich steigt. Über die zweite Steigerung 2 Std. nach der Gabe, die immer wieder-

Kurve 12.



Blutzuckerkurve (am 1. Versuchstag)

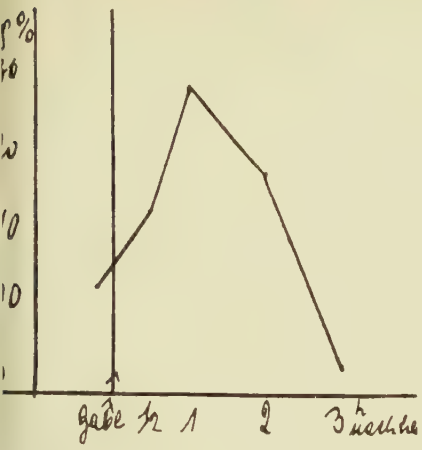
Ret. %	Ery. Mill.	Hb %
6	6,0	120
5	5,5	110
4	5,0	100
3	4,5	90
2	4,0	80
1	3,5	70
0	3,0	60



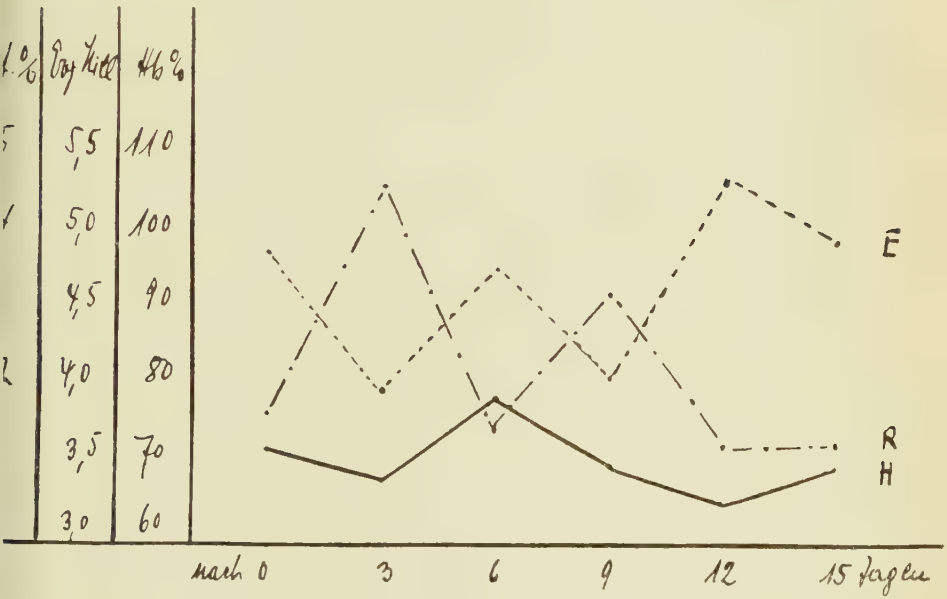
Hepatopson P. W. S. Fällung (2 Kaninchen)

——— H = Hämoglobin
- - - - - E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

Kurve 13.



ıtzuckerkurve (am 1. Versuchstag)



Hepatopson P. W. S. Filtrat (7 Kaninchen)

——— H = Hämoglobin
------ E = Erythrocyten
-·-·- R = Reticulocyten

kehrte und uns sehr auffällig war, können wir bisher keine Erklärung geben.

Hb. und Erythrocyten gehen deutlich zurück. Mit der Steilheit der Senkung geht auch die Steilheit des späteren Anstiegs parallel.

Eine starke Reticulocytose bis 5,7% haben wir nie beim Tierversuch mit anderen Extrakten erzielen können, deshalb glauben wir in der Phosphorwolframsäurefällung eine besonders starke Konzentration der aktiven Substanzen annehmen zu können.

Das weiße Blutbild zeigt keine Besonderheiten. Eine Eosinophilie von 2% trat immer nach 10 Tagen ein.

Die Wirksamkeit dieser Fraktion haben wir am Krankenbett beweisen können (Büttner).

Kr. ♂ 39 Jahre alt.

Hb 43%, Erythro 1,68 Mill. Magensaft anacid, Urob. ++.

Es handelt sich um einen Patienten, der schon vielfach wegen perniciöser Anämie mit Leberextrakten behandelt wurde und zwar auch mit injizierbaren. Am 13. 7. 31 zeigte der 39jährige Mann 31% Hämoglobin, 1,45 Mill. Erythrocyten und starke Poikilocytose und Polychromasie. Urobilinogen war stark vermehrt, es bestand Achylie. Nach 24tägiger Behandlung mit 2 ccm Hepatopson hatte er 59% Hb. und 2,5 Mill. Erythrocyten. Am 5. 2. 32 wurde er wieder aufgenommen mit 43% Hb. und 1,7 Mill Erythrocyten. Nach 30tägiger Behandlung mit Injektionspräparaten war das Hb. 59% und die Erythrocyten 2,4 Millionen. Nach 40tägiger Behandlung war das Blutbild fast das gleiche, nämlich 62% Hb. und 2,3 Mill. Erythrocyten. Darauf wurde ein Extrakt aus Phosphorwolframsäure gegeben, worauf das Hb. und die Erythrocyten prompt anstiegen. Nach 28 Tagen (23 Behandlungstage) mit je 2 ccm pro die war das Hb. 75% und die Erythrocyten 3,8 Millionen. Das Gewicht, welches die ersten 40 Tage nur um 800 g zugenommen hatte, nahm in diesen 28 Tagen um 5,7 kg zu. Der Extrakt wurde folgendermaßen hergestellt: Handelsübliches Hepatopson wurde mit Phosphorwolframsäure gefällt. Die Phosphorwolframsäure wurde mit Baryt entfernt, das Barium als Sulfat wiederum entfernt. Schließlich wurde der Extrakt auf die ursprüngliche Konzentration aufgefüllt. Er enthielt kein Eiweiß mehr, aber auch keine Aminosäuren usw. Der Stickstoffgehalt betrug 197 mg %, d. h. mit einer Zufuhr von täglich 4 mg Stickstoff wurden ausgezeichnete therapeutische Resultate erzielt. Dieser Fall ist ein deutlicher Beweis für unsere Ansicht, daß die wirksame Substanz in Leberpräparaten nur in kleinsten Mengen nötig ist, und daß alle bisher angegebenen Substanzen nicht das wirksame Prinzip darstellen. Auch die Annahme anderer Autoren, daß das Prinzip eine stickstoffhaltige Base sei, wird hierdurch erschüttert.

Auch das P.W.S.-Filtrat haben wir den Kaninchen gegeben und dabei den Blutzuckerspiegel und die Blutwerte verfolgt. Wir zeigen auf Seite 33, Kurve 13 die Durchschnittskurve.

Das P.W.S.-Filtrat erzeugt auch eine gewisse Veränderung im Blut, die Senkung und auch der Anstieg zeigen große Schwankungen aber ohne jede Regelmäßigkeit, so daß man diese Veränderungen mit dem Extrakt nicht in irgendeine Kausalbeziehung bringen, also nicht ohne weiteres als Wirkung deuten kann. Es ist aber auffällig, daß eine deutliche Reticulocytose bis 4,7% durch das P.W.S.-Filtrat erzielt wird, und die Durchschnittskurve der Blutzuckerwerte von 7 Kaninchen zeigt, daß auch das P.W.S.-Filtrat eine deutliche blutzucker-

steigernde Wirkung hat, wenn auch nicht so stark wie die P.W.S.-Fällung. Für diese Beobachtung sind vielleicht zwei Deutungen möglich:

1. Daß die P.W.S.-Fällung eine so starke Wirkung hat, läßt daraus schließen, daß die wirksamen Prinzipien größtenteils schon durch P.W.S. gefällt, in der Fällung in konzentrierter Form enthalten sind. Da auch das P.W.S.-Filtrat eine Wirkung, wenn auch nicht so deutliche hat, kann man vermuten, daß wohl ein kleiner Teil der wirksamen Substanz noch im Filtrat zurückgeblieben ist.

2. Die Eindeutigkeit der Wirkung der P.W.S.-Fällung läßt daran denken, daß die aktiven Substanzen wenigstens zum Teil von P.W.S. gefällt sind und zwar in reinster Form, frei von anderen Substanzen, die nicht von P.W.S. gefällt sind, und die vielleicht störend oder entgegen den aktiven Prinzipien wirken könnten. Man müßte hier wohl annehmen, daß P.W.S. kein spezifisches Fällungsmittel dieser hypothetischen aktiven Substanz sei, daß aber vielleicht die störenden Substanzen nicht mitgefällt werden, und so die aktiven Prinzipien ihre Wirkung in vollem Maß entfalten können. Bestätigt sich dies in weiteren Untersuchungen, dann hätten wir vielleicht ein Verfahren, wirksame Leberextrakte von fremden Substanzen weitgehend zu befreien.

Es sind dies allerdings nur Vermutungen und Vorstellungen und es werden viele Untersuchungen nötig sein, um einigermaßen sicheres sagen zu können.

Was für Substanzen können hier in Frage kommen? Sind sie stickstoffrei? Der Nachweis, daß die von Fontès und Thivolle oder West und Howe beschriebenen Aminosäuren nicht in Frage kommen, schließt nicht aus, daß die aktiven Substanzen Stickstoff enthalten können. Die Leberextrakte im Handel enthalten immer noch ungefähr 0,5 g N. Gelänge es, eine vollkommen stickstoffreie Fraktion herzustellen, die genau so wirksam ist, dann ist erst die Behauptung berechtigt, die wirksamen Prinzipien seien keine stickstoffhaltige Substanz. (Auf ein sehr stickstoffarmes Extrakt wiesen wir oben hin).

Die aktiven Substanzen sind keine Proteine, da die wirksamen Leberextrakte meistens eiweißfrei sind. (Mit Ausnahme von Campolon und Hepracton, die deutlich mit Sulfosalicylsäure eine positive Reaktion geben (s. Tab. 3). Sie sind auch keine Lipoide, da das ätherlösliche Filtrat inaktiv ist. Die Leberextrakte im Handel sind frei von Kohlehydrat, daher kann die wirksame Substanz auch kein Kohlehydrat sein. Sie sind löslich in Wasser und werden durch konzentrierten Alkohol nicht gefällt. Cohn u. a. haben daraus geschlossen, daß die aktive Substanz entweder eine Aminobase oder ein Polypeptid sein muß. Da die wirksame Fraktion von West und Howe (27, 31), später auch eine von Cohn u. a. eine negative Biuretreaktion hat, und die Leberextrakte Hepatopson, Heptracton und Degewop auch eine negative Biuretreaktion haben, d. h. Polypeptide nicht enthalten, so ist die wirksame Substanz wahrscheinlich kein Polypeptid.

Ist sie dann eine Aminobase? Die Leberextrakte geben alle positive Ninhydrinreaktionen, das bedeutet, daß in allen Leberextrakten Aminokörper in a-Stellung enthalten sind. Die meisten basischen Aminokörper werden durch Pikrin-, Pikrolonsäure und Flaviansäure gefällt (36),

aber die aktiven Substanzen der pern. Anämie werden gerade durch diese nicht gefällt. Wir erkennen auch aus Tab. 3, daß die Leberextrakte nicht alle mit diesen Säuren Fällungen ergeben. Gerade die neue Fabrikationsserie von Hepatopson gibt mit den erwähnten Reagenzien keine oder nur schwache Fällung, ohne eine Beeinflussung seiner Wirksamkeit erkennen zu lassen. Das Hepatrat und Campolon geben auch keine, bzw. nur eine schwache Fällung. Von der P.W.S., die auch ein Fällungsmittel der basischen Körper darstellt, werden die aktiven Prinzipien gefällt (wenn vielleicht auch nicht vollkommen). Die basischen Aminokörper wie z. B. Arginin, Lysin, Histidin, Zystein u. a. werden von P.W.S. gefällt, aber kein Oxyprolin, Tryptophan und keine andere Monoaminosäure (35). Welche Substanz von denen trägt nun die aktiven Prinzipien? Oder sind noch unbekannte Substanzen in der Fällung? Die Schwermetallsalze, wie z. B. Kupferacetat, Quecksilberchlorid, Bleiacetat, Uranylacetat, Zinksulfat u. a. fällen das Eiweiß und manche Aminosäure (36). So geben Leberextrakte mit den genannten Salzen verschiedene Fällungen. Wie verhält sich nun die Fällbarkeit der bei Pern. Anämie wirksamen Substanz durch Schwermetalle? Wir haben Bleiacetat, Quecksilberchlorid, Uranylacetat verwendet und mit den Leberextrakten verschiedene Fällungsreaktionen angestellt (s. Tab. 3). Wir haben nicht erkennen können, daß die aktiven Prinzipien durch die genannten Salze gefällt werden. Mit Bleiacetat gibt Hepatopson gar keine Fällung, die anderen geben mehr oder weniger starke Fällung oder Trübung. Mit Quecksilberchlorid gibt nur Hepatrat eine starke Fällung, während bei anderen nur eine gewisse Trübung oder leichte Flockung entsteht. Mit Uranylacetat geben Hepatrat, Hepracton, Degewop und Hepatopson (alte Fabrikation) eine starke Fällung, die anderen beiden, Campolon und Hepatopson (neue Fabrikation) nur geringe Trübung. Ferner können wir beim Vergleichen der alten und neuen Fabrikation des Hepatopsons deutlich erkennen, daß die neue Fabrikation dank ihrer weitgehenden Reinigung keine oder nur schwache Trübung mit den genannten Salzen gibt ohne ihre Wirksamkeit zu verlieren. Die amerikanische Autoren haben gezeigt, daß die Blei- und Quecksilberfällungen per os gegeben, keine Wirkung haben.

Mit Silbernitrat geben Hepracton, Hepatrat und Hepatopson einen weißen Niederschlag, der in Ammoniak wieder gelöst wird. Der Niederschlag besteht wahrscheinlich aus Chlorsilber; durch einen Vergleich mit dem Kochsalzgehalt der verschiedenen Extrakte aus Tab. 2 sieht man sehr deutlich, wie der hohe Gehalt des Hepatrats an Kochsalz (1 g) mit der stärksten Fällung mit Silbernitrat unter den Extrakten im Einklang steht.

Damit sind wir am Ende unserer Untersuchungen angelangt und müssen feststellen, daß wir die Befunde anderer Forscher vielfach ergänzen, erweitern, aber auch berichtigen konnten. Andererseits müssen wir aber auch zugeben, daß wir in der Frage nach dem wirksamen Prinzip der Lebertherapie nicht sehr viel weiter gekommen sind; unsere Ergebnisse sind eigentlich mehr negativer Art. Wir stellten nämlich fest, daß weder das von West und Howe aus Leberextrakten isolierte Oxyprolin noch das Tryptophan und Histidin von Fontès

Tabelle 3.

Fällungs- und Farbreaktion der Leber-Präparate.

Reagens	Hepatopson 1931	Hepatopson 1932
Methanol	starke Fällung	keine Fällung
Alkohol	starke Fällung	schwache Fällung
Aceton	starke Fällung, setzt gut ab	schwache Fällung, setzt gut ab
Bleiacetat	keine Fällung	keine Fällung
Quecksilberchlorid	weiße Flocken	Trübung
Silbernitrat	weiße Fällung, lösl. in Ammoniak	weiße Fällung, lösl. in Ammoniak
Uranylacetat	starke Fällung	sehr schwache Fällung
Phosphorwolframsäure	weiße, starke Fällung	weiße, starke Fällung
Ferrocyanwasserstoffsäure	keine Fällung	keine Fällung
Bariumchlorid	starke Fällung, teilw. lösl. in Salzsäure	schwache Fällung, teilw. lösl. in Salzsäure
Barytwasser	Fällung	Fällung
Pikrinsäure	starke Fällung	schwache Fällung
Pikrolonsäure	keine Fällung	keine Fällung
Flaviansäure	Fällung	keine Fällung
Biuretreaktion	sehr deutlich	undeutlich
Sulfosalicylsäure	negativ	negativ
Millon's Reagens	weiße Fällung, Rotfärbung	weiße Fällung, Rotfärbung
Ninhydrin	positiv	positiv
Eisenchlorid	negativ	negativ
pH	6,4	6,4

Reagens	Hepatrat (Nordmark)	Campolon (I. G. Farb.)
Methanol	starke Fällung, setzt gut ab	flockige, geringe Fällung
Aethanol	starke Fällung, setzt schlecht ab	starke, flockige Fällung, setzt gut ab
Aceton	starke Fällung, setzt gut ab	*starke milchige Trbg.* setzt sehr schelcht ab
Bleiacetat	starke, weiße Fällung	starke, weiße Fällung
Quecksilberchlorid	starke Fällung	geringe Fällung
Silbernitrat	starke Fällung, lösl. in Ammoniak	schwache Fällung, lösl. in Ammoniak
Uranylacetat	starke Fällung	geringe Fällung
Phosphorwolframsäure	sehr starke Fällung	starke Fällung
Ferrocyanwasserstoffsäure	keine Fällung	ger. weiße Trübung
Bariumchlorid	geringe Trübung	geringe Trübung
Bariumhydroxyd	Trübung	geringe Fällung
Pikrinsäure	negativ	schwache Fällung
Pikrolonsäure	negativ	schwache Fällung
Flaviansäure	negativ	schwache Fällung
Biuretreaktion	*sehr deutlich*	*sehr deutlich*
Sulfosalicylsäure	negativ	*starke Fällung*
Millon's Reagens	weiße Fällung in der Kälte, in der Wärme starke Rotfärbung	sofort starke Rotfärbg. und rote Fällung
Ninhydrin	positiv	positiv
Eisenchlorid	Rotfärbung	negativ
ammoniakal. Silberlsg.	starke Reduktion	schwache Reduktion
pH	6,2	4,2
Aussehen der Lösung	klar, rotbraun	*trübe,* hellgebl, schäumt stark

Tabelle 3 (Fortsetzung).

Reagens	Hepracton (Merk)	Leberextrakt (Degewop)
Methanol	schwache Fällung	Trübung
Alkohol	starke Fällung	starke Fällung
Aceton	starke Fällung, setzt nicht ab	starke Fällung, sezt nicht ab
Bleiacetat	*starke Trübung*	braune Flocken
Quecksilberchlorid	Trübung	braune Flocken
Silbernitrat	weiße Fällung, lösl. in Ammoniak	geringe, braune Fällung, lösl. in Ammoniak
Uranylacetat	starke Fällung	starke Fällung
Ferrocyanwasserstoffsäure	keine Fällung	keine Fällung
Phosphorwolframsäure	weiße, starke Fällung	weiße, starke Fällung
Bariumchlorid	schwache Trübung, lösl. in Salzsäure	keine Trübung
Barytwasesr	Fällung	Trübung
Pikrinsäure	schwache Fällung	starke Fällung
Pikrolonsäure	keine Fällung	schwache Fällung
Flaviansäure	Fällung	keine Fällung
Biuretreaktion	negativ	negativ
Sulfosalicylsäure	*positiv*	negativ
Millon's Reagens	weiße Fällung, Rotfärbung	braune Fällung, *keine* Rotfärbung
Ninhydrin	positiv	positiv
Eisenchlorid	negativ	negativ
pH	6,2	4,6

und Thivolle das antianämische Prinzip darstellen. Ferner stellten wir fest, daß in allen möglichen Leberfraktionen antianämisch wirksame Stoffe zu finden sind. Im Gegensatz zu der in den Vereinigten Staaten herrschenden Meinung haben wir außerdem festgestellt, daß der Stickstoffgehalt bei der antianämischen Wirkung kaum eine Rolle spielt. Wir konnten Extrakte darstellen, die mit 4 mg Stickstoff pro dosi äußerst wirksam waren. In Ergänzung der Versuche von Büttner (19), Schlierbach (20) und Lucius (22) stellten wir fest, daß alle Leberextrakte des Handels eine mehr oder weniger starke Wirkung auf den Blutzucker haben und daß alle von uns untersuchten Leberpräparate eine ungemein große Anzahl von Farb- und Niederschlagsreaktionen ergaben, ohne daß man irgendeine gemeinsame Basis finden konnte. Es trübt dies die Aussichten auf die Isolierung des wirksamen Prinzips natürlich nicht unerheblich. Nach unseren Untersuchungen haben wir am ehesten den Eindruck, daß es sich um eine hochwirksame Substanz handelt, die in allen möglichen Fraktionen enthalten ist, höchstens in dieser oder jener in etwas größerer Konzentration. Man möchte deshalb am ehesten annehmen, daß es sich um ein echtes Hormon handelt.

Herrn Geh. Med. Rat Prof. Dr. Voit spreche ich für die freundliche Überlassung der Arbeit meinen verbindlichsten Dank aus.

Ebenso bin ich Herrn Priv.-Dozent Dr. Büttner zu großem Danke verpflichtet für seine zahlreichen, wertvollen Anregungen und bereitwillige Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit.

Literatur.

1. Die Darstellung entnehme ich im wesentlichen aus:
   Lichtwitz: Klin. Chemie 1930.
   Krehl: Pathol. Physiol. 1930.
2. L. R. Müller: Lebensnerven und Lebenstriebe 1931.
3. K. W. Schulze: Die Bedeutung der Schwermetalle f. d. Anämiebehandlung Kli. Wo. 497, 1932.
4. Nägeli: Lehrbuch d. Blutkrankheiten 1931.
5. Eppinger: Hepatolienale Erkrankung 1921.
6. Im wesentlichen aus:
   Brugsch: Lehrbuch d. inneren Medizin 1931.
   Morawitz: Blut u. Blutkrankh. (Handbuch d. inn. Med. von Bergmann) 1926.
   Nägeli: Lehrbuch d. Blutkrankheiten.
7. Seyderhelm: Über Pathogenese der P.A.-Ergebnisse der inn. Medizin. 1920.
8. — Lebertherapie a. Handbuch d. spez. Path. u. Therapie (Ergänzungsband v. Brugsch) 1929.
9. Morawitz: Zur Pathogenese d. P.A. Arch. f. kl. Med. 159, 85.
10. Schilling: Zunahme d. P.A. Med. Klin. No. 12/13 1927.
11. Bisch Hirschfeld: Kongreß inn. Med. 1892.
12. Handbuch d. norm. und pathol. Physiol. Bd. 6, Tl. 2, 1928.
13. Schlumm: Behandlung d. P.A. mit Leber und Leberextrakten, Kli. Wo. 957, 1932.
14. Whipple u. a.: bloodregeneration in severe anemia II. u. IV. Amer. J. o. physiol. 72. 408, 1925 u. 79, 271, 1927. Exp. anemia diet and related patholic changes o. human anemia, J. o. amer. med. ass. 91, 863, 1928.
15. Minot u. Murphy: Traetment of P.A. by a special diet. 87. 470. 1926.
16. Gänßlen: D.M.W. No. 45, 1930.
17. Schilling: Gänßlens injizierbares Leberextrakt. Kli. Wo. No. 7, 1931.
18. Gänßlen: D.M.W. No. 46, 1931.
19. Büttner: Exp. u. kl. Beiträge zur pharmakol. Wirkung injizierbarer Leberextrakte. Kli. Wo. No. 29, 1932.
20. Schlierbach: Dissertation 1932.
21. Büttner: Exp. u. klin. Beiträge zur Organther. d. Leber- u. Gallenwegserkrankungen. Kli. Wo. No. 17 u. 47, 1931.
22. Lucius: Dissertation 1932.
23. Kabel: Dissertation 1932.
24. Pinkussen: Mikromethodik 1930.
25. Wilderer: Paradoxes u. Widerspruchsvolles in d. Neurologie und Gesamtmed., Jahreskurse f. ärztl. Fortbildg. Heft 5, 1932.
26. Fontès u. Thivolle: le sang Bd. 4, no. 6, 1930, S. 658—730.
27. West u. Howe: A crystalline derivate of an acid present in liver active in P.A. J. of biol. chem. 88, 427, 1930.
28. Cohn, Minot u. a.: The nature of the material in liver effective in P.A. I, II, III, J. of biol. chem. 74, 69, 1928 u. 77, 325, 1928.
29. J. of amer. med. ass. 90, 21. 2. 1928.
30. West u. Nichols: Liverfraction in P.A. J. amer. med. ass. 91 867, 1928.
31. West u. Howe: J. of clin. investigation 9, 1, 1931.
32. Whipple u. a.: Bloodregeneration in severe anemia XV. J. of biol. chem. 81, 251, 1929.
33. Blotner u. Murphy: J. amer. med. ass. 92, 1332, 1929 u. 94, 1811, 1930.
34. Schinmen: ref. in Kongreßbl. inn. Med. 48, 393; 53, 355; 56, 480.
35. Abderhaden: Handbuch d. biolog. Arbeitsmethode Abt. 1. chem. Methode, Teil 7.
36. — Biochem. Handlexikon.

Lebenslauf.

Ich, Yen Tschen, wurde am 4. April 1908 als Sohn eines Augenspezialisten in Schanghai geboren. Vom Jahre 1915 besuchte ich die dortige Volksschule und anschließend das Gymnasium der Tung Chi Universität zu Wusung, wo ich im Sommer des Jahres 1927 mit einer Schlußprüfung absolvierte. Gleich danach ging ich nach Deutschland und widmete mich dem Studium der Medizin an den Universitäten zu Berlin, München, Marburg und Frankfurt a. M., wo ich im Februar des Jahres 1930 meine ärztliche Vorprüfung bestand. Nach drei klinischen Semestern an derselben Universität, habe ich mein Studium dann hier in Gießen bis zum Ende fortgesetzt.